

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

09/830663
Translation
JLO

Applicant's or agent's file reference K 2747 - sch/msl	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/DE99/03517	International filing date (day/month/year) 29 October 1999 (29.10.99)	Priority date (day/month/year) 29 October 1998 (29.10.98)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C07K 16/08		
Applicant DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM STIFTUNG DES ÖFFENTLICHEN RECHTS		

<p>1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.</p> <p>2. This REPORT consists of a total of <u>9</u> sheets, including this cover sheet.</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).</p> <p>These annexes consist of a total of <u>2</u> sheets.</p>
<p>3. This report contains indications relating to the following items:</p> <p>I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report</p> <p>II <input type="checkbox"/> Priority</p> <p>III <input checked="" type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability</p> <p>IV <input type="checkbox"/> Lack of unity of invention</p> <p>V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement</p> <p>VI <input type="checkbox"/> Certain documents cited</p> <p>VII <input checked="" type="checkbox"/> Certain defects in the international application</p> <p>VIII <input checked="" type="checkbox"/> Certain observations on the international application</p>

Date of submission of the demand 26 May 2000 (26.05.00)	Date of completion of this report 19 January 2001 (19.01.2001)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/DE99/03517

I. Basis of the report

1. With regard to the elements of the international application:*

- ☐ the international application as originally filed
- ☒ the description:
pages _____ 1-20 _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☒ the claims:
pages _____ 1-12 _____, as originally filed
pages _____, as amended (together with any statement under Article 19
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☒ the drawings:
pages _____ 1/3-3/3 _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☒ the sequence listing part of the description:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____ 1, 2 _____, filed with the letter of _____ 15 March 2000 (15.03.2000)

2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☒ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☒ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☒ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☒ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).**

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/DE99/03517

III. Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

1. The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

- ☐ the entire international application.
- ☒ claims Nos. 12

because:

- ☒ the said international application, or the said claims Nos. 12 relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (*specify*):

See Supplemental Box

- ☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. _____ are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

- ☐ the claims, or said claims Nos. _____ are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed.

- ☐ no international search report has been established for said claims Nos. _____

2. A meaningful international preliminary examination cannot be carried out due to the failure of the nucleotide and/or amino acid sequence listing to comply with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions:

- ☐ the written form has not been furnished or does not comply with the standard.
- ☐ the computer readable form has not been furnished or does not comply with the standard.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/DE 99/03517

Supplemental Box

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: III

Claim 12 pertains to a subject which, in the opinion of the Examining Authority, comes under PCT Rule 67.1(iv). Therefore no report is established with respect to the industrial applicability of the subject of this claim (PCT Article 34(4)(a)(i)).

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/DE 99/03517

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-12	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1-12	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-11	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

1. This report makes reference to the following documents:

D1: WO-A-95/11997 (DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM)
D2: WISTUBA A ET AL: 'Intermediates of Adeno-Associated Virus type 2 assembly: Identification of soluble complexes containing Rep and Cap proteins.'
JOURNAL OF VIROLOGY, (1995 SEP) 69 (9) 5311-9

2. Novelty

- 2.1 Independent Claim 1 pertains to a monoclonal antibody or a fragment thereof, characterized in that it binds to the capsid of an adeno-associated virus (AAV) and prevents the virus from binding to the original target cell.

Antibodies with these characteristics are not known from the prior art. Therefore Claim 1 and Claims 2-8, which are dependent on Claim 1, are novel as per PCT Article 33(2).

- 2.2 Claim 9 is likewise novel as per the requirements of PCT Article 33(2), since hybridoma cells that produce an antibody according to Claims 1-8 are not known

from the prior art.

2.3 Claims 10 and 11 are novel (PCT Article 33(2)), because an AAV vector to which an antibody that blocks the virus from binding to the natural target cell is bound, is not found in the prior art.

2.4 The same applies to the subject of Claim 12, which pertains to a method for directed gene transfer assisted by the AAV vector according to Claims 10 and 11. Therefore Claim 12 is novel as per PCT Article 33(2).

3. Inventive step

3.1 D1, which is regarded as the closest prior art, discloses antibodies directed against an AAV antigen, in particular against the capsid proteins VP1, VP2 or VP3 (page 3, lines 1-3). These antibodies can be used to detect the presence of AAV in the tissue of a biological sample (page 2, lines 24-33).

The subject of Claim 1 differs from D1 in that the claimed antibodies prevent the virus from binding to the original target cells.

Therefore the problem is regarded as that of providing a blocking antibody.

D2 likewise discloses antibodies directed against VP1-VP3 (page 5312, column 2, lines 57-69).

However, the use of antibodies which prevent the AAV from binding to the original target cell is likewise neither disclosed in nor suggested by D2.

Therefore Claim 1 is inventive pursuant to PCT Article 33(3).

- 3.2 The same also pertains to Claims 2-8, which are dependent on Claim 1 and therefore likewise meet the requirements of PCT Article 33(3).
- 3.3 For the above-mentioned reasons, the subject of Claim 9, which pertains to hybridoma cells that produce antibodies according to Claims 1-8, is likewise inventive as per PCT Article 33(3).
- 3.4 Independent Claim 10 and dependent Claim 11, which pertain to an AAV vector characterized in that an antibody according to one of Claims 1-8 is bound to the virus capsid such that the virus can no longer bind to the target cell, are inventive as per PCT Article 33(3) based on the arguments presented in point 3.1.
- 3.5 The same applies to the use of a vector according to Claims 10 and 11. Therefore Claim 12 is likewise inventive pursuant to PCT Article 33(3).
4. The PCT Contracting States do not have uniform criteria for assessing the industrial applicability of the subject of Claim 12, a method for directed gene transfer using the AAV vector according to Claims 10 and 11, in its present form. Patentability may depend on the wording of the claims. The EPO, for example, does not recognize the industrial applicability of claims to the medical use of a compound; it does, however, allow claims to the first medical use of a known compound or the use of such a compound to manufacture a drug for a new medical application.
5. The document Bartlett, J.S. et al., Nature Biotech.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/DE 99/03517

(1999) 17, pages 181-186, which is cited in the search report, is not regarded as prior art pursuant to PCT Article 33(2), since the claimed priority date can be acknowledged for the relevant parts of the present application.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/DE 99/03517

VII. Certain defects in the international application

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:

The application contains a formatting error on page 10,
lines 25-29.

VIII. Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

Although the application is based on a novel and inventive concept, the following objections arise:

1. Claims 1-5 pertain, in general, to an antibody that binds to the capsid of an AAV and prevents the virus from binding to the original target cell. This blocking of the binding of an AAV to the original target cell is regarded as the feature of the antibody that substantiates an inventive step. Because the application discloses only two specific antibodies having the described characteristics (page 17, lines 20-22; Claim 6), Claims 1-5, with their present broad wording, are not supported by the description and therefore do not meet the requirements of PCT Article 6. In addition, the description fails to disclose the invention in a way that would make it possible for a person skilled in the art to arrive, without unreasonable expenditure of effort, at the subject matter of Claims 1-5 (PCT Article 5), i.e. antibodies, in general, that show a blocking effect.
2. The same applies to the subject of Claim 9, which pertains in general to hybridoma cells for producing the antibodies according to Claims 1-8. Therefore Claim 9 does not meet the requirements of PCT Articles 5 and 6.
3. Claims 1-3, 5, 7, 8 and 10 are unclear as per PCT Article 6, since the word "fragment" used therein defines neither the size nor the technical

VIII. Certain observations on the international application

characteristics of said fragment.

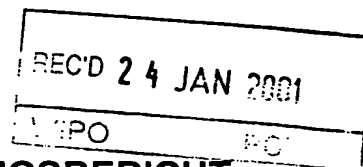
4. The deposit numbers indicated in Claim 6 refer, according to the description in the present application (page 18, lines 1-4), to the hybridoma cells that produce the antibodies, rather than to the antibodies *per se*.
Therefore Claim 6 is unclear as per PCT Article 6. Furthermore, there is no attestation confirming deposition attached to the international application as per the requirements of PCT Article 5 and PCT Rule 13bis.
5. The expression "optionally" in Claim 10 has no limiting effect. Therefore features immediately following said expression are to be regarded as optional.

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)



Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts K 2747 - sch/msl	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/DE99/03517	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 29/10/1999	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Tag) 29/10/1998
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C07K16/08		
Anmelder DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM et al.		



- Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
- Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 9 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.

☒ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).

 Diese Anlagen umfassen insgesamt 2 Blätter.

- Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Berichts
- II ☐ Priorität
- III ☒ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☒ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☒ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags 26/05/2000	Datum der Fertigstellung dieses Berichts 19.01.2001
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:  Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter Thumb, W Tel. Nr. +49 89 2399 7350 

I. Grundlag des Berichts

1. Dieser Bericht wurde erstellt auf der Grundlage (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten.*):

Beschreibung, Seiten:

1-20 ursprüngliche Fassung

Patentansprüche, Nr.:

1-12 ursprüngliche Fassung

Zeichnungen, Blätter:

1/3-3/3 ursprüngliche Fassung

Sequenzprotokoll in der Beschreibung, Seiten:

1, 2, eingereicht mit Schreiben vom 15.3.2000.

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☒ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☒ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☒ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- ☒ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/DE99/03517

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung, Seiten:
- ☐ Ansprüche, Nr.:
- ☐ Zeichnungen, Blatt:

5. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen).

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

III. Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit

1. Folgende Teile der Anmeldung wurden nicht daraufhin geprüft, ob die beanspruchte Erfindung als neu, auf erfinderischer Tätigkeit beruhend (nicht offensichtlich) und gewerblich anwendbar anzusehen ist:

- ☐ die gesamte internationale Anmeldung.
- ☒ Ansprüche Nr. 12.

Begründung:

☒ Die gesamte internationale Anmeldung, bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. 12 beziehen sich auf den nachstehenden Gegenstand, für den keine internationale vorläufige Prüfung durchgeführt werden braucht (*genaue Angaben*):
siehe Beiblatt

☐ Die Beschreibung, die Ansprüche oder die Zeichnungen (*machen Sie hierzu nachstehend genaue Angaben*) oder die obengenannten Ansprüche Nr. sind so unklar, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte (*genaue Angaben*):

☐ Die Ansprüche bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. sind so unzureichend durch die Beschreibung gestützt, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte.

☐ Für die obengenannten Ansprüche Nr. wurde kein internationaler Recherchenbericht erstellt.

2. Eine sinnvolle internationale vorläufige Prüfung kann nicht durchgeführt werden, weil das Protokoll der Nukleotid- und/oder Aminosäuresequenzen nicht dem in Anlage C der Verwaltungsvorschriften vorgeschriebenen Standard entspricht:

- ☐ Die schriftliche Form wurde nicht eingereicht bzw. entspricht nicht dem Standard.
- ☐ Die computerlesbare Form wurde nicht eingereicht bzw. entspricht nicht dem Standard.

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	1-12
	Nein: Ansprüche	
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	1-12
	Nein: Ansprüche	
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	1-11
	Nein: Ansprüche	

**2. Unterlagen und Erklärungen
siehe Beiblatt**

VII. Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung

Es wurde festgestellt, daß die internationale Anmeldung nach Form oder Inhalt folgende Mängel aufweist:
siehe Beiblatt

VIII. Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Zur Klarheit der Patentansprüche, der Beschreibung und der Zeichnungen oder zu der Frage, ob die Ansprüche in vollem Umfang durch die Beschreibung gestützt werden, ist folgendes zu bemerken:
siehe Beiblatt

Zu Punkt III

Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit

Der Anspruch 12 beziehen sich auf einen Gegenstand, der nach Auffassung dieser Behörde unter die Regel 67.1 (iv) PCT fällt. Daher wird über die gewerbliche Anwendbarkeit des Gegenstands dieser Ansprüche kein Gutachten erstellt (Artikel 34(4) a) (i) PCT).

Zu Punkt V

Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Es wird auf die folgenden Dokumente verwiesen:

- D1: WO 95 11997 A (DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM)
- D2: WISTUBA A ET AL: 'Intermediates of Adeno-Associated Virus type 2 assembly: Identification of soluble complexes containing Rep and Cap proteins.' JOURNAL OF VIROLOGY, (1995 SEP) 69 (9) 5311-9

2. Neuheit

2.1 Der unabhängige Anspruch 1 bezieht sich auf einen monoklonalen Antikörper oder ein Fragment davon, welcher dadurch gekennzeichnet ist, daß er an das Kapsid eines Adeno-assoziierten Virus (AAV) bindet und die Bindung des Virus an die ursprüngliche Zielzelle verhindert.

Antikörper mit diesen Eigenschaften sind im Stand der Technik nicht bekannt.

Anspruch 1 und die davon abhängigen Ansprüche 2-8 sind daher neu im Sinne von Artikel 33(2) PCT.

2.2 Anspruch 9 ist ebenfalls neu gemäß den Vorschriften von Artikel 33(2) PCT, da Hybridomzellen, welche einen Antikörper nach Ansprüchen 1-8 produzieren im Stand der Technik nicht bekannt sind.

2.3 Ansprüche 10 und 11 sind neu (Artikel 33(2) PCT), da ein AAV-Vektor, an den ein die Virusbindung an die natürliche Zielzelle blockierender Antikörper gebunden ist, nicht zum Stand der Technik gehört.

2.4 Das gleiche trifft auf den Gegenstand von Anspruch 12 zu, der sich auf ein Verfahren zum gerichteten Gentransfer unter Zuhilfenahme des AAV-Vektors gemäß Ansprüchen 10 und 11 bezieht. Anspruch 12 ist daher neu im Sinne von Artikel 33(2) PCT.

3. Erfinderische Tätigkeit

3.1 Dokument D1, das als nächstliegender Stand der Technik angesehen wird, offenbart Antikörper, die gegen ein AAV Antigen, im speziellen gegen die Kapsidproteine VP1, VP2 oder VP3, gerichtet sind (Seite 3, Zeilen 1-3). Diese Antikörper können dazu verwendet werden, die Gegenwart von AAV im Gewebe einer biologischen Probe nachzuweisen (Seite 2, Zeilen 24-33).

Der Gegenstand von Anspruch 1 unterscheidet sich von Dokument D1 dadurch, daß die beanspruchten Antikörper die Bindung des Virus an die ursprüngliche Zielzelle verhindern.

Das Problem wird daher darin gesehen, einen blockierenden Antikörper zur Verfügung zu stellen.

Dokument D2 offenbart ebenfalls Antikörper, die gegen VP1-VP3 gerichtet sind (Seite 5312, Spalte 2, Zeilen 57-69).

Allerdings wird auch in D2 die Verwendung von Antikörpern, die AAV Bindung an die ursprüngliche Zielzelle blockieren, weder offenbart noch nahegelegt.

Anspruch 1 ist daher erfinderisch im Sinne von Artikel 33(3) PCT.

3.2 Das gleiche gilt auch für die von Anspruch 1 abhängigen Ansprüche 2-8, die daher ebenfalls den Erfordernissen von Artikel 33(3) PCT entsprechen.

3.3 Aus den obengenannten Gründen ist der Gegenstand von Anspruch 9, der sich auf Hybridomzellen, die Antikörper gemäß den Ansprüchen 1-8 produzieren, ebenfalls erfinderisch im Sinne von Artikel 33(3) PCT.

3.4 Der unabhängige Anspruch 10 und der abhängige Anspruch 11, die sich auf einen

AAV Vektor beziehen, der dadurch gekennzeichnet ist, daß ein Antikörper nach einem der Ansprüche 1-8 an das Viruskapsid gebunden wird, sodaß das Virus nicht mehr an die Zielzelle binden kann, sind erfinderisch im Sinne von Artikel 33(3) PCT auf Grund der unter Punkt 3.1 dargelegten Argumentation.

- 3.5 Das gleiche gilt für die Verwendung einer Vektors nach Anspruch 10 und 11. Anspruch 12 ist daher ebenfalls erfinderisch im Sinne von Artikel 33(3).
4. Für die Beurteilung der Frage, ob der Gegenstand des vorliegenden Anspruchs 12, i.e. ein Verfahren zum gerichteten Gentransfer unter Verwendung des AAV Vektors nach Ansprüchen 10 und 11, gewerblich anwendbar sind, gibt es in den PCT-Vertragsstaaten keine einheitlichen Kriterien. Die Patentierbarkeit kann auch von der Formulierung der Ansprüche abhängen. Das EPA beispielsweise erkennt den Gegenstand von Ansprüchen, die auf die medizinische Anwendung einer Verbindung gerichtet sind, nicht als gewerblich anwendbar an; es können jedoch Ansprüche zugelassen werden, die auf eine bekannte Verbindung zur erstmaligen medizinischen Anwendung und die Verwendung einer solchen Verbindung zur Herstellung eines Arzneimittels für eine neue medizinische Anwendung gerichtet sind.
5. Das im Recherchenbericht zitierte Dokument Bartlett, J.S. et al., Nature Biotech. (1999) 17, p. 181-186 ist nicht als Stand der Technik nach Artikel 33(2) zu berücksichtigen, da der beanspruchte Prioritätstag den relevanten Teilen der vorliegenden Anmeldung zuerkannt werden kann.

Zu Punkt VII

Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung

Die Anmeldung enthält einen Formatierungsfehler auf Seite 10, Zeilen 25-29.

Zu Punkt VIII

B stimmt B merkmale zur internationalen Anmeldung

Trotzdem die Anmeldung auf einem neuen und erfinderischen Konzept basiert, ergeben sich folgende Einwände:

1. Ansprüche 1-5 beziehen sich allgemein auf einen Antikörper, der an das Kapsid eines AAV bindet und die Bindung des Virus an die ursprüngliche Zielzelle verhindert.
Diese Blockierung der Bindung eines AAV an die ursprüngliche Zielzelle wird als das die erfinderische Tätigkeit begründende Merkmal der Antikörper angesehen. Da in der Anmeldung jedoch nur zwei spezielle Antikörper mit den beschriebenen Eigenschaften offenbart werden (Seite 17, Zeilen 20-22; Anspruch 6), sind Ansprüche 1-5 in der gegenwärtigen breiten Formulierung nicht von der Beschreibung gestützt und erfüllen deshalb nicht die Erfordernisse von Artikel 6 PCT.
Zudem wird in der Beschreibung die Erfindung nicht in einer Weise offenbart, die es dem Fachmann ohne unzumutbaren Aufwand ermöglichen würde, zum Gegenstand der Ansprüche 1-5, i.e. Antikörper im allgemeinen, die eine blockierende Wirkung zeigen, zu gelangen (Artikel 5 PCT).
2. Das gleiche gilt für den Gegenstand von Anspruch 9, der sich generell auf Hybridomazellen zur Produktion der Antikörper nach Ansprüchen 1-8 bezieht. Anspruch 9 erfüllt daher nicht die Erfordernisse der Artikel 5 und 6 (PCT).
3. Ansprüchen 1-3, 5, 7, 8, und 10 sind unklar im Sinne von Artikel 6 PCT, da der darin verwendete Ausdruck "Fragment" weder die Größe noch die technischen Eigenschaften besagten Fragments definiert.
4. Die in Anspruch 6 genannten Hinterlegungsnummern beziehen sich laut Beschreibung der gegenwärtigen Anmeldung (Seite 18, Zeilen 1-4) auf die Hybridomzellen, welche die Antikörper produzieren, und nicht auf die Antikörper an sich.
Anspruch 6 ist daher unklar im Sinne von Artikel 6 PCT.
Darüberhinaus liegen der internationalen Patentanmeldung keine Hinterlegungsbestätigungen gemäß den Forderungen von Artikel 5 PCT und Regel 13bis PCT bei.

5. Der Ausdruck "gegebenenfalls" in Anspruch 10 hat keinen limitierenden Charakter. Daher sind danach angeführte Merkmale als optional zu betrachten.

SEQUENZPROTOKOLL

<110> Deutsches Krebsforschungszentrum

<120> An das AAV-Kapsid bindender, den Zelltropismus verändernder
Antikörper und Verfahren zum gerichteten Gentransfer

<130> K 2747

<140> PCT/DE99/03517

<141> 1999-10-29

<150> DE 198 49 643.5

<151> 1998-10-29

<160> 5

<170> PatentIn Ver. 2.1.

<210> 1

<211> 16

<212> PRT

<213> künstliche Sequenz

<220>

<223> AAV Kapsidsequenz

<400> 1

Gly Pro Pro Pro Pro Lys Pro Ala Glu Arg His Lys Asp Asp Ser Cys

16

<210> 2

<211> 30

<212> PRT

<213> künstliche Sequenz

<220>

<223> AAV Kapsidsequenz

<400> 2

Ser Arg Thr Asn Thr Pro Ser Gly Thr Thr Thr Gln Ser Arg Leu Gln

16

Phe Ser Gln Ala Gly Ala Ser Asp Ile Arg Asp Gln Ser Cys

30

<210> 3

<211> 22

<212> PRT

<213> künstliche Sequenz

<220>

<223> AAV Kapsidsequenz

<400> 3

2

Gln Ser Gly Val Leu Ile Phe Gly Lys Gln Gly Ser Glu Lys Thr Asn 16
Val Asp Ile Glu Lys Cys 22

<210> 4
<211> 22
<212> PRT
<213> künstliche Sequenz

<220>
<223> AAV Kapsidsequenz

<400> 4

Ser Val Ser Thr Asn Leu Gln Arg Gly Asn Arg Gln Ala Ala Thr Ala 16
Asp Val Asn Thr Gln Cys 22

<210> 5
<211> 9
<212> PRT
<213> künstliche Sequenz

<220>
<223> Peptidlinker

<400> 5

Ala Lys Thr Thr Pro Lys Leu Gly Gly

9

.....
.....
.....

.....
.....
.....
.....

.....
.....
.....
.....

.....
.....
.....
.....

Der Antrag ist bei der zuständigen mit der in nationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde oder, wenn mehrere Behörden zuständig sind, bei der vom Anmelder gewählten Behörde einzureichen. Der Anmelder kann den Namen oder den Zweibuchstaben-Code der Behörde auf der nachstehenden Zeile angeben.

IPEA/

PCT

KAPITEL II

ANTRAG AUF INTERNATIONALE VORLÄUFIGE PRÜFUNG

nach Artikel 31 des Vertrags über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens:
Der (die) Unterzeichnete(n) beantragt (beantragen), daß für die nachstehend bezeichnete internationale Anmeldung die internationale vorläufige Prüfung nach dem Vertrag über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens durchgeführt wird.

Von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde auszufüllen

Bezeichnung der IPEA		Eingangsdatum des ANTRAGS
Feld Nr. I KENNZEICHNUNG DER INTERNATIONALEN ANMELDUNG		Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts K 2747 - sch/msl
Internationales Aktenzeichen PCT/DE99/03517	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 29 Okt 1999 (29.10.99)	(Frühester) Prioritätstag (Tag/Monat/Jahr) 29 Okt 1998 (29.10.98)
Bezeichnung der Erfindung An das AAV-Kapsid bindender, den Zelltropismus verändernder Antikörper und Verfahren zum gerichteten Gentransfer		
Feld Nr. II ANMELDER		
Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.) Deutsches Krebsforschungszentrum Stiftung des öffentlichen Rechts Im Neuenheimer Feld 280 D-69120 Heidelberg		Telefonnr.: Telefaxnr.: Fernschreiber.:
Staatsangehörigkeit (Staat): DE	Sitz oder Wohnsitz (Staat): DE	
Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.) KLEINSCHMIDT, Jürgen Weihwiesenweg 5 D-69245 Bammental		
Staatsangehörigkeit (Staat): DE	Sitz oder Wohnsitz (Staat): DE	
Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.) WOBUS, Christiane Heidelberger Str. 34 D-69126 Heidelberg		
Staatsangehörigkeit (Staat): DE	Sitz oder Wohnsitz (Staat): DE	
<input type="checkbox"/> Weitere Anmelder sind auf einem Fortsetzungsblatt angegeben.		

Blatt Nr. 2

Internationales Aktenzeichen
PCT/DE99/03517

Fortsetzung von Feld Nr. II ANMELDER

Wird keines der folgenden Felder benutzt, so ist dieses Blatt dem Antrag nicht beizufügen.

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname: bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)

KERN, Andrea
Auf der Spreit 25
D-74930 Ittlingen

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname: bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname: bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname: bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

☐

Weitere Anmelder sind auf einem zusätzlichen Fortsetzungsblatt angegeben.

Blatt Nr. 4

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE99/03517

Feld Nr. VI KONTROLLISTE

Dem Antrag liegen folgende Unterlagen für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung bei:

- | | |
|---|-----------|
| 1. Änderungen nach Artikel 34 | |
| Beschreibung | : Blätter |
| Ansprüche | : Blätter |
| Zeichnungen | : Blätter |
| 2. Begleitschreiben zu den Änderungen nach Artikel 34 | : Blätter |
| 3. Kopie der Änderungen nach Artikel 19 | : Blätter |
| 4. Kopie einer Erklärung nach Artikel 19 | : Blätter |
| 5. Sonstige (einzeln auflühren): | Blätter |

Von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde auszufüllen

erhalten nicht erhalten

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

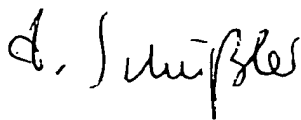
Dem Antrag liegen außerdem die nachstehend angekreuzten Unterlagen bei:

- | | |
|--|---|
| 1. <input type="checkbox"/> unterzeichnete gesonderte Vollmacht | 4. <input checked="" type="checkbox"/> Blatt für die Gebührenberechnung |
| 2. <input type="checkbox"/> Kopie der allgemeinen Vollmacht | 5. <input checked="" type="checkbox"/> sonstige (einzeln auflühren): |
| 3. <input type="checkbox"/> Begründung für das Fehlen der Unterschrift | Scheck Nr. 5740 |

Feld Nr. VII UNTERSCHRIFT DES ANMELDERS, ANWALTS ODER GEMEINSAMEN VERTRETERS

Der Name jeder unterzeichnenden Person ist neben der Unterschrift zu wiederholen und es ist anzugeben, sofern sich dies nicht aus dem Antrag ergibt, in welcher Eigenschaft die Person unterschreibt.

München, 26. Mai 2000



Dr. Andrea Schübler

Von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde auszufüllen

- | | |
|--|---|
| 1. Datum des tatsächlichen Eingangs des ANTRAGS: | |
| 2. Geändertes Eingangsdatum des Antrags aufgrund von BERICHTIGUNGEN nach Regel 60.1.b): | |
| 3. <input type="checkbox"/> Eingangsdatum des Antrags NACH Ablauf von 19 Monaten ab Prioritätsdatum: Punkt 4 und Punkt 5. unten finden keine Anwendung. | <input type="checkbox"/> Der Anmelder wurde entsprechend unterrichtet |
| 4. <input type="checkbox"/> Eingangsdatum des Antrags INNERHALB 19 Monate ab Prioritätsdatum wegen Fristverlängerung nach Regel 30.5. | |
| 5. <input type="checkbox"/> Das Eingangsdatum des Antrags liegt nach Ablauf von 19 Monaten ab Prioritätsdatum, der verspätete Eingang ist aber nach Regel 32 ENTSCHULDIGT. | |

Vom Internationalen Büro auszufüllen

Antrag vom IPEA erhalten am:

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

Absender: MIT DER INTERNATIONALEN VORLÄUFIGEN
PRÜFUNG BEAUFTRAGTE BEHÖRDE

An:

SCHÜSSLER, Andrea
HUBER & SCHÜSSLER
Patentanwälte
Truderinger Strasse 246
81825 München
ALLEMAGNE

PCT

MITTEILUNG ÜBER DIE ÜBERSENDUNG
DES INTERNATIONALEN VORLÄUFIGEN
PRÜFUNGSBERICHTS
(Regel 71.1 PCT)

Huber & Schüssler
Patentanwälte

22 JAN. 2001

Absendedatum
(Tag/Monat/Jahr)

19.01.2001

Frist

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts
K 2747 - sch/msl

WICHTIGE MITTEILUNG

Internationales Aktenzeichen
PCT/DE99/03517

Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr)
29/10/1999

Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr)
29/10/1998

Anmelder

DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM et al.

1. Dem Anmelder wird mitgeteilt, daß ihm die mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde hiernit den zu der internationalen Anmeldung erstellten internationalen vorläufigen Prüfungsbericht, gegebenenfalls mit den dazugehörigen Anlagen, übermittelt.
2. Eine Kopie des Berichts wird - gegebenenfalls mit den dazugehörigen Anlagen - dem Internationalen Büro zur Weiterleitung an alle ausgewählten Ämter übermittelt.
3. Auf Wunsch eines ausgewählten Amtes wird das Internationale Büro eine Übersetzung des Berichts (jedoch nicht der Anlagen) ins Englische anfertigen und diesem Amt übermitteln.

4. ERINNERUNG

Zum Eintritt in die nationale Phase hat der Anmelder vor jedem ausgewählten Amt innerhalb von 30 Monaten ab dem Prioritätsdatum (oder in manchen Ämtern noch später) bestimmte Handlungen (Einreichung von Übersetzungen und Entrichtung nationaler Gebühren) vorzunehmen (Artikel 39 (1)) (siehe auch die durch das Internationale Büro im Formblatt PCT/IB/301 übermittelte Information).

Ist einem ausgewählten Amt eine Übersetzung der internationalen Anmeldung zu übermitteln, so muß diese Übersetzung auch Übersetzungen aller Anlagen zum internationalen vorläufigen Prüfungsbericht enthalten. Es ist Aufgabe des Anmelders, solche Übersetzungen anzufertigen und den betroffenen ausgewählten Ämtern direkt zuzuleiten.

Weitere Einzelheiten zu den maßgebenden Fristen und Erfordernissen der ausgewählten Ämter sind Band II des PCT-Leitfadens für Anmelder zu entnehmen.

Name und Postanschrift der mit der Internationalen Prüfung beauftragten Behörde



Europäisches Patentamt
D-80298 München
Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d
Fax: +49 89 2399 - 4465

Bevollmächtigter Bediensteter

Pedersen, C

Tel. +49 89 2399-8063 3162



PCT**ANTRAG**

Der Unterzeichnete beantragt, daß die vorliegende internationale Anmeldung nach dem Vertrag über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens behandelt wird.

Vom Anmeldeamt auszufüllen

Internationales Aktenzeichen

Internationales Anmeldedatum

Name des Anmeldeamts und "PCT International Application"

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts (falls gewünscht)
(max. 12 Zeichen) K 2747 - hu/msl**Feld Nr. I BEZEICHNUNG DER ERFINDUNG**

An das AAV-Kapsid bindender, den Zelltropismus verändernder Antikörper und Verfahren zum gerichteten Gentransfer

Feld Nr. II ANMELDER

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

Deutsches Krebsforschungszentrum
Stiftung des öffentlichen Rechts
Im Neuenheimer Feld 280

69120 Heidelberg

DE

☐ Diese Person ist gleichzeitig Erfinder

Telefonnr.:

Telefaxnr.:

Fernschreibnr.:

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐ alle Bestimmungsstaaten

☒ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

☐ nur die Vereinigten Staaten von Amerika

☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten
Feld Nr. III WEITERE ANMELDER UND/ODER (WEITERE) ERFINDER

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

KLEINSCHMIDT, Jürgen
Weihwiesenweg 5

69245 Bammental

DE

Diese Person ist:

☐ nur Anmelder

☒ Anmelder und Erfinder

☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐ alle Bestimmungsstaaten

☐ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

☒ nur die Vereinigten Staaten von Amerika

☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

☐ Weitere Anmelder und/oder (weitere) Erfinder sind auf einem Fortsetzungsblatt angegeben.
Feld Nr. IV ANWALT ODER GEMEINSAMER VERTRETER; ODER ZUSTELLANSCHRIFT

Die folgende Person wird hiermit bestellt/ist bestellt worden, um für den (die) Anmelder vor den zuständigen internationalen Behörden in folgender Eigenschaft zu handeln als:

☒ Anwalt

☐ gemeinsamer Vertreter

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)

HUBER, Bernard
Truderinger Str. 246
81825 München

HUBER & SCHÜSSLER
Patentanwälte · Patent Attorneys
Truderinger Straße 246 · 81825 München
Tel. 089/42 72 47 48 · Fax 089/42 72 47 49

Telefonnr.:

089/42724748

Telefaxnr.:

089/42724749

Fernschreibnr.:

☐ Zustellanschrift: Dieses Kästchen ist anzukreuzen, wenn kein Anwalt oder gemeinsamer Vertreter bestellt ist und statt dessen im obigen Feld eine spezielle Zustellanschrift angegeben ist.

2
Blatt Nr.

Fortsetzung von Feld Nr. III WEITERE ANMELDER UND/ODER (WEITERE) ERFINDER	
<i>Wird keines der folgenden Felder benutzt, so sollte dieses Blatt dem Antrag nicht beigelegt werden.</i>	
<p><small>Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)</small></p> <p>WOBUS, Christiane Heidelberger Str. 34 69126 Heidelberg DE</p>	<p>Diese Person ist:</p> <p><input type="checkbox"/> nur Anmelder</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Anmelder und Erfinder</p> <p><input type="checkbox"/> nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)</p>
Staatsangehörigkeit (Staat): <div style="text-align: center;">DE</div>	Sitz oder Wohnsitz (Staat): <div style="text-align: center;">DE</div>
<p>Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten: <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika <input checked="" type="checkbox"/> nur die Vereinigten Staaten von Amerika <input type="checkbox"/> die im Zusatzfeld angegebenen Staaten</p>	
<p><small>Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)</small></p> <p>KERN, Andrea Auf der Spreit 25 74930 Ittlingen DE</p>	<p>Diese Person ist:</p> <p><input type="checkbox"/> nur Anmelder</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Anmelder und Erfinder</p> <p><input type="checkbox"/> nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)</p>
Staatsangehörigkeit (Staat): <div style="text-align: center;">DE</div>	Sitz oder Wohnsitz (Staat): <div style="text-align: center;">DE</div>
<p>Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten: <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika <input type="checkbox"/> nur die Vereinigten Staaten von Amerika <input type="checkbox"/> die im Zusatzfeld angegebenen Staaten</p>	
<p><small>Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)</small></p>	<p>Diese Person ist:</p> <p><input type="checkbox"/> nur Anmelder</p> <p><input type="checkbox"/> Anmelder und Erfinder</p> <p><input type="checkbox"/> nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)</p>
Staatsangehörigkeit (Staat):	Sitz oder Wohnsitz (Staat):
<p>Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten: <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika <input type="checkbox"/> nur die Vereinigten Staaten von Amerika <input type="checkbox"/> die im Zusatzfeld angegebenen Staaten</p>	
<p><small>Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)</small></p>	<p>Diese Person ist:</p> <p><input type="checkbox"/> nur Anmelder</p> <p><input type="checkbox"/> Anmelder und Erfinder</p> <p><input type="checkbox"/> nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)</p>
Staatsangehörigkeit (Staat):	Sitz oder Wohnsitz (Staat):
<p>Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten: <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika <input type="checkbox"/> nur die Vereinigten Staaten von Amerika <input type="checkbox"/> die im Zusatzfeld angegebenen Staaten</p>	
<p><input type="checkbox"/> Weitere Anmelder und/oder (weitere) Erfinder sind auf einem zusätzlichen Fortsetzungsblatt angegeben.</p>	

Feld Nr. V BESTIMMUNG VON STAATEN

Die folgenden Bestimmungen nach Regel 4.9 Absatz 3 werden hiermit vorgenommen (bitte die entsprechenden Kästchen ankreuzen; wenigstens ein Kästchen muß angekreuzt werden):

Regionales Patent

- ☒ AP ARIPO-Parent: GH Ghana, GM Gambia, KE Kenia, LS Lesotho, MW Malawi, SD Sudan, SZ Swasiland, UG Uganda, ZW Simbabwe und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Harare-Protokolls und des PCT ist
- ☒ EA Eurasisches Patent: AM Armenien, AZ Aserbaidschan, BY Belarus, KG Kirgisistan, KZ Kasachstan, MD Republik Moldau, RU Russische Föderation, TJ Tadschikistan, TM Turkmenistan und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Eurasischen Patentübereinkommens und des PCT ist
- ☒ EP Europäisches Patent: AT Österreich, BE Belgien, CH und LI Schweiz und Liechtenstein, CY Zypern, DE Deutschland, DK Dänemark, ES Spanien, FI Finnland, FR Frankreich, GB Vereinigtes Königreich, GR Griechenland, IE Irland, IT Italien, LU Luxemburg, MC Monaco, NL Niederlande, PT Portugal, SE Schweden und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Europäischen Patentübereinkommens und des PCT ist
- ☒ OA OAPI-Parent: BF Burkina Faso, BJ Benin, CF Zentralafrikanische Republik, CG Kongo, CI Côte d'Ivoire, CM Kamerun, GA Gabun, GN Guinea, ML Mali, MR Mauretanien, NE Niger, SN Senegal, TD Tschad, TG Togo und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat der OAPI und des PCT ist (falls eine andere Schutzrechtsart oder ein sonstiges Verfahren gewünscht wird, bitte auf der gepunkteten Linie angeben)

Nationales Patent (falls eine andere Schutzrechtsart oder ein sonstiges Verfahren gewünscht wird, bitte auf der gepunkteten Linie angeben):

- | | |
|--|--|
| <input checked="" type="checkbox"/> AL Albanien | <input checked="" type="checkbox"/> LS Lesotho |
| <input checked="" type="checkbox"/> AM Armenien | <input checked="" type="checkbox"/> LT Litauen |
| <input checked="" type="checkbox"/> AT Österreich | <input checked="" type="checkbox"/> LU Luxemburg |
| <input checked="" type="checkbox"/> AU Australien | <input checked="" type="checkbox"/> LV Lettland |
| <input checked="" type="checkbox"/> AZ Aserbaidschan | <input checked="" type="checkbox"/> MD Republik Moldau |
| <input checked="" type="checkbox"/> BA Bosnien-Herzegowina | <input checked="" type="checkbox"/> MG Madagaskar |
| <input checked="" type="checkbox"/> BB Barbados | <input checked="" type="checkbox"/> MK Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien |
| <input checked="" type="checkbox"/> BG Bulgarien | <input checked="" type="checkbox"/> MN Mongolei |
| <input checked="" type="checkbox"/> BR Brasilien | <input checked="" type="checkbox"/> MW Malawi |
| <input checked="" type="checkbox"/> BY Belarus | <input checked="" type="checkbox"/> MX Mexiko |
| <input checked="" type="checkbox"/> CA Kanada | <input checked="" type="checkbox"/> NO Norwegen |
| <input checked="" type="checkbox"/> CH und LI Schweiz und Liechtenstein | <input checked="" type="checkbox"/> NZ Neuseeland |
| <input checked="" type="checkbox"/> CN China | <input checked="" type="checkbox"/> PL Polen |
| <input checked="" type="checkbox"/> CU Kuba | <input checked="" type="checkbox"/> PT Portugal |
| <input checked="" type="checkbox"/> CZ Tschechische Republik | <input checked="" type="checkbox"/> RO Rumänien |
| <input type="checkbox"/> DE Deutschland | <input checked="" type="checkbox"/> RU Russische Föderation |
| <input checked="" type="checkbox"/> DK Dänemark | <input checked="" type="checkbox"/> SD Sudan |
| <input checked="" type="checkbox"/> EE Estland | <input checked="" type="checkbox"/> SE Schweden |
| <input checked="" type="checkbox"/> ES Spanien | <input checked="" type="checkbox"/> SG Singapur |
| <input checked="" type="checkbox"/> FI Finnland | <input checked="" type="checkbox"/> SI Slowenien |
| <input checked="" type="checkbox"/> GB Vereinigtes Königreich | <input checked="" type="checkbox"/> SK Slowakei |
| <input checked="" type="checkbox"/> GE Georgien | <input checked="" type="checkbox"/> SL Sierra Leone |
| <input checked="" type="checkbox"/> GH Ghana | <input checked="" type="checkbox"/> TJ Tadschikistan |
| <input checked="" type="checkbox"/> GM Gambia | <input checked="" type="checkbox"/> TM Turkmenistan |
| <input checked="" type="checkbox"/> HR Kroatien | <input checked="" type="checkbox"/> TR Türkei |
| <input checked="" type="checkbox"/> HU Ungarn | <input checked="" type="checkbox"/> TT Trinidad und Tobago |
| <input checked="" type="checkbox"/> ID Indonesien | <input checked="" type="checkbox"/> UA Ukraine |
| <input checked="" type="checkbox"/> IL Israel | <input checked="" type="checkbox"/> UG Uganda |
| <input checked="" type="checkbox"/> IS Island | <input checked="" type="checkbox"/> US Vereinigte Staaten von Amerika |
| <input checked="" type="checkbox"/> JP Japan | <input checked="" type="checkbox"/> UZ Usbekistan |
| <input checked="" type="checkbox"/> KE Kenia | <input checked="" type="checkbox"/> VN Vietnam |
| <input checked="" type="checkbox"/> KG Kirgisistan | <input checked="" type="checkbox"/> YU Jugoslawien |
| <input checked="" type="checkbox"/> KP Demokratische Volksrepublik Korea | <input checked="" type="checkbox"/> ZW Simbabwe |
| <input checked="" type="checkbox"/> KR Republik Korea | |
| <input checked="" type="checkbox"/> KZ Kasachstan | Kästchen für die Bestimmung von Staaten (für die Zwecke eines nationalen Patents), die dem PCT nach der Veröffentlichung dieses Formblatts beigetreten sind: |
| <input checked="" type="checkbox"/> LC Saint Lucia | Indien |
| <input checked="" type="checkbox"/> LK Sri Lanka | <input checked="" type="checkbox"/> Grenada |
| <input checked="" type="checkbox"/> LR Liberia | |

Erklärung bzgl. vorsorglicher Bestimmungen: Zusätzlich zu den oben genannten Bestimmungen nimmt der Anmelder nach Regel 4.9 Absatz b auch alle anderen nach dem PCT zulässigen Bestimmungen vor mit Ausnahme der im Zusatzfeld genannten Bestimmungen, die von dieser Erklärung ausgenommen sind. Der Anmelder erklärt, daß diese zusätzlichen Bestimmungen unter dem Vorbehalt einer Bestätigung stehen und jede zusätzliche Bestimmung, die vor Ablauf von 15 Monaten ab dem Prioritätsdatum nicht bestätigt wurde, nach Ablauf dieser Frist als vom Anmelder zurückgenommen gilt. (Die Bestätigung einer Bestimmung erfolgt durch die Einreichung einer Mitteilung, in der diese Bestimmung angegeben wird, und die Zahlung der Bestimmungs- und der Bestätigungsgebühr. Die Bestätigung muß beim Anmeldeamt innerhalb der Frist von 15 Monaten eingehten.)

Blatt Nr. 4

Feld Nr. VI PRIORITÄTSANSPRUCH		<input type="checkbox"/> Weitere Prioritätsansprüche sind im Zusatzfeld angegeben.		
Anmeldedatum der früheren Anmeldung (Tag/Monat/Jahr)	Aktenzeichen der früheren Anmeldung	Ist die frühere Anmeldung eine:		
		nationalc Anmeldung: Staat	regionale Anmeldung:* regionales Amt	internationale Anmeldung: Anmeldeamt
Zeile (1) 29. Oktober 1998 (29.10.98)	198 49 643.5	DE		
Zeile (2)				
Zeile (3)				
<input checked="" type="checkbox"/> Das Anmeldeamt wird ersucht, eine beglaubigte Abschrift der oben in der (den) Zeile(n) <u>1</u> bezeichneten früheren Anmeldung(en) zu erstellen und dem internationalen Büro zu übermitteln (nur falls die frühere Anmeldung(en) bei dem Amt eingereicht worden ist(sind), das für die Zwecke dieser internationalen Anmeldung Anmeldeamt ist)				
<i>* Falls es sich bei der früheren Anmeldung um eine ARIPO-Anmeldung handelt, so muß in dem Zusatzfeld mindestens ein Staat angegeben werden, der Mitgliedstaat der Pariser Verbandsübereinkunft zum Schutz des gewerblichen Eigentums ist und für den die frühere Anmeldung eingereicht wurde.</i>				
Feld Nr. VII INTERNATIONALE RECHERCHENBEHÖRDE				
Wahl der internationalen Recherchenbehörde (ISA) (falls zwei oder mehr als zwei internationale Recherchenbehörden für die Ausführung der internationalen Recherche zuständig sind, gehen Sie die von Ihnen gewählte Behörde an; der Zweibuchstaben-Code kann benutzt werden):		Antrag auf Nutzung der Ergebnisse einer früheren Recherche; Bezugnahme auf diese frühere Recherche (falls eine frühere Recherche bei der internationalen Recherchenbehörde beantragt oder von ihr durchgeführt worden ist):		
ISA / EPA		Datum (Tag/Monat/Jahr)	Aktenzeichen	Staat (oder regionales Amt)
Feld Nr. VIII KONTROLLISTE; EINREICHUNGSSPRACHE				
Diese internationale Anmeldung enthält die folgende Anzahl von Blättern:		Dieser internationalen Anmeldung liegen die nachstehend angekreuzten Unterlagen bei:		
Antrag :	4	1. <input checked="" type="checkbox"/> Blatt für die Gebührenberechnung		
Beschreibung (ohne Sequenzprotokollteil) :	20	2. <input type="checkbox"/> Gesonderte unterzeichnete Vollmacht		
Ansprüche :	12	3. <input type="checkbox"/> Kopie der allgemeinen Vollmacht; Aktenzeichen (falls vorhanden):		
Zusammenfassung :	1	4. <input type="checkbox"/> Begründung für das Fehlen einer Unterschrift		
Zeichnungen :	3	5. <input type="checkbox"/> Prioritätsbeleg(e), in Feld Nr. VI durch folgende Zeilennummer gekennzeichnet:		
Sequenzprotokollteil der Beschreibung :		6. <input type="checkbox"/> Übersetzung der internationalen Anmeldung in die folgende Sprache:		
Blattzahl insgesamt :	40	7. <input type="checkbox"/> Gesonderte Angaben zu hinterlegten Mikroorganismen oder anderem biologischen Material		
		8. <input type="checkbox"/> Protokoll der Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenzen in computerlesbarer Form		
		9. <input checked="" type="checkbox"/> Sonstige (einzeln auflühren): Scheck, Kop.f.Priobel.		
Abbildung der Zeichnungen, die mit der Zusammenfassung veröffentlicht werden soll (Nr.):		Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht wird: deutsch		
Feld Nr. IX UNTERSCHRIFT DES ANMELDERS ODER DES ANWALTS				
Der Name jeder unterzeichnenden Person ist neben der Unterschrift zu wiederholen, und es ist anzugeben, sofern sich dies nicht eindeutig aus dem Antrag ergibt, in welcher Eigenschaft die Person unterzeichnet.				
München, den 28. Oktober 1999				
De. Bernard Huber				

Vom Anmeldeamt auszufüllen	
1. Datum des tatsächlichen Eingangs dieser internationalen Anmeldung:	2. Zeichnungen <input type="checkbox"/> eingegangen: <input type="checkbox"/> nicht eingegangen:
3. Geändertes Eingangsdatum aufgrund nachträglich, jedoch fristgerecht eingegangener Unterlagen oder Zeichnungen zur Vervollständigung dieser internationalen Anmeldung:	
4. Datum des fristgerechten Eingangs der angeforderten Richtigstellungen nach Artikel 11(2) PCT:	
5. Internationale Recherchenbehörde (falls zwei oder mehr zuständig sind): ISA /	6. <input type="checkbox"/> Übermittlung des Rechercheexemplars bis zur Zahlung der Recherchegebühr aufgeschoben

Vom Internationalen Büro auszufüllen
Datum des Eingangs des Aktenexemplars beim Internationalen Büro:

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

Patentanwälte

HUBER & SCHUESSLER

Truderinger Str. 246

81825 München

Absender:

ANMELDEAMT
wie unten angegeben

EINGEGANGEN

Mittteilung über den Eingang von Unterlagen
über vorgeblichen internationalen Anmeldung
gemäß PCT Verwaltungsrichtlinien Abschnitt 301

Erlec.

ABSENDEDATUM beim Anmeldeamt

08. Nov. 1999

Name und Anschrift des Anwalts, falls kein Anwalt, des Anmelders

AKTENZEICHEN DES ANMELDERS ODER ANWALTS

U 2747 - hu/msl

KENNZEICHNUNG DER VORGEBLICHEN INTERNATIONALEN ANMELDUNG

Internationales Aktenzeichen

Bezeichnung der Erfindung

PCT/DE

PCT/DE 99/03517

An das AAV-Kapsid bindender, den Zell....

Anmelder (Name)

Deutsches Krebsforschungszentrum Stiftung der....

MITTEILUNG

Hiermit wird dem Anmelder mitgeteilt, daß beim Anmeldeamt am

29. Okt. 1999

(Eingangsdatum der Unterlagen)

Unterlagen eingegangen sind, die eine internationale Anmeldung darstellen sollen.

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, daß diese Unterlagen vom Anmeldeamt in Bezug auf die Erfordernisse von Artikel 11 Absatz 1, d.h. auf ihre Übereinstimmung mit den Erfordernissen für die Zuerkennung des internationalen Anmeldedatums, noch nicht geprüft worden sind.

Den Unterlagen ist vorläufig das oben angegebene internationale Aktenzeichen zugewiesen worden. Der Anmelder wird hiermit aufgefordert, im Schriftverkehr mit dem Anmeldeamt auf dieses Aktenzeichen Bezug zu nehmen.

Kontrolliste: Ansprüche 2 Blätter (nicht 12)

DAS ANMELDEAMT

Name und Postanschrift des Anmeldeamts

DEUTSCHES PATENT- UND MARKENAMT
80297 München

Telefaxnr. (0 89) 21 95 - 22 21

Bevollmächtigter Bediensteter

Boys

Telefonnr. (0 89) 21 95 - 22 68 3240

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

Absender: INTERNATIONALE RECHERCHENBEHÖRDE

PCT

An
HUBER & SCHÜSSLER
Patentanwälte
z.H. HUBER, Bernard
Truderinger Strasse 246
81825 München
GERMANY

MITTEILUNG ÜBER DIE ÜBERMITTLUNG DES
INTERNATIONALEN RECHERCHENBERICHTS
EINGEGABEN DER ERKLÄRUNG

10. MAI 2000 (Regel 44.1 PCT)

Erled.

Absendedatum
(Tag/Monat/Jahr)

08/05/2000

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts

K 2747 - hu/msl

WEITERES VORGEHEN

siehe Punkte 1 und 4 unten

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 99/03517

Internationales Anmeldedatum

(Tag/Monat/Jahr)

29/10/1999

Anmelder

DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM et al.

1. ☒ Dem Anmelder wird mitgeteilt, daß der Internationale Recherchenbericht erstellt wurde und ihm hiermit übermittelt wird.

Einreichung von Änderungen und einer Erklärung nach Artikel 19:

Der Anmelder kann auf eigenen Wunsch die Ansprüche der internationalen Anmeldung ändern (siehe Regel 46):

Bis wann sind Änderungen einzureichen?

Die Frist zur Einreichung solcher Änderungen beträgt üblicherweise zwei Monate ab der Übermittlung des internationalen Recherchenberichts; weitere Einzelheiten sind den Anmerkungen auf dem Beiblatt zu entnehmen.

Wo sind Änderungen einzureichen?

Unmittelbar beim Internationalen Büro der WIPO, 34, CHEMIN des Colombettes, CH-1211 Genève 20,
Telefaxnr.: (41-22) 740.14.35

Nähere Hinweise sind den Anmerkungen auf dem Beiblatt zu entnehmen.

2. ☐ Dem Anmelder wird mitgeteilt, daß kein internationaler Recherchenbericht erstellt wird und daß ihm hiermit die Erklärung nach Artikel 17(2)a) bermittelt wird.
3. ☐ Hinsichtlich des Widerspruchs gegen die Entrichtung einer zusätzlichen Gebühr (zusätzlicher Gebühren) nach Regel 40.2 wird dem Anmelder mitgeteilt, daß
- ☐ der Widerspruch und die Entscheidung hierüber zusammen mit seinem Antrag auf Übermittlung des Wortlauts sowohl des Widerspruchs als auch der Entscheidung hierüber an die Bestimmungsämter dem Internationalen Büro übermittelt worden sind.
- ☐ noch keine Entscheidung über den Widerspruch vorliegt; der Anmelder wird benachrichtigt, sobald eine Entscheidung getroffen wurde.

4. Weiteres Vorgehen: Der Anmelder wird auf folgendes aufmerksam gemacht:

Kurz nach Ablauf von 18 Monaten seit dem Prioritätsdatum wird die internationale Anmeldung vom Internationalen Büro veröffentlicht. Will der Anmelder die Veröffentlichung verhindern oder auf einen späteren Zeitpunkt verschieben, so muß gem Regel 90 bis bzw. 90 bis 3 vor Abschluß der technischen Vorbereitungen für die internationale Veröffentlichung eine Erklärung über die Zurücknahme der internationalen Anmeldung oder des Prioritätsanspruchs beim Internationalen Büro eingehen.

Innerhalb von 19 Monaten seit dem Prioritätsdatum ist ein Antrag auf internationale vorläufige Prüfung einzureichen, wenn der Anmelder den Eintritt in die nationale Phase bis zu 30 Monaten seit dem Prioritätsdatum (in manchen Ämtern sogar noch länger) verschieben möchte.

Innerhalb von 20 Monaten seit dem Prioritätsdatum muß der Anmelder die für den Eintritt in die nationale Phase vorgeschriebenen Handlungen vor allen Bestimmungsämtern vornehmen, die nicht innerhalb von 19 Monaten seit dem Prioritätsdatum in der Anmeldung oder einer nachträglichen Auswhlerklrung ausgewählt wurden oder nicht ausgewählt werden konnten, da für sie Kapitel II des Vertrages nicht verbindlich ist.

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde



Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL-2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Nina Vercio

ANMERKUNGEN ZU FORMBLATT PCT/ISA/220

Diese Anmerkungen sollen grundlegende Hinweise zur Einreichung von Änderungen gemäß Artikel 19 geben. Diesen Anmerkungen liegen die Erfordernisse des Vertrags über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens (PCT), der Ausführungsordnung und der Verwaltungsrichtlinien zu diesem Vertrag zugrunde. Bei Abweichungen zwischen diesen Anmerkungen und obengenannten Texten sind letztere maßgebend. Nähere Einzelheiten sind dem PCT-Leitfaden für Anmelder, einer Veröffentlichung der WIPO, zu entnehmen.

Die in diesen Anmerkungen verwendeten Begriffe "Artikel", "Regel" und "Abschnitt" beziehen sich jeweils auf die Bestimmungen des PCT-Vertrags, der PCT-Ausführungsordnung bzw. der PCT-Verwaltungsrichtlinien.

HINWEISE ZU ÄNDERUNGEN GEMÄSS ARTIKEL 19

Nach Erhalt des internationalen Recherchenberichts hat der Anmelder die Möglichkeit, einmal die Ansprüche der internationalen Anmeldung zu ändern. Es ist jedoch zu betonen, daß, da alle Teile der internationalen Anmeldung (Ansprüche, Beschreibung und Zeichnungen) während des internationalen vorläufigen Prüfungsverfahrens geändert werden können, normalerweise keine Notwendigkeit besteht, Änderungen der Ansprüche nach Artikel 19 einzureichen, außer wenn der Anmelder z.B. zum Zwecke eines vorläufigen Schutzes die Veröffentlichung dieser Ansprüche wünscht oder ein anderer Grund für eine Änderung der Ansprüche vor ihrer internationalen Veröffentlichung vorliegt. Weiterhin ist zu beachten, daß ein vorläufiger Schutz nur in einigen Staaten erhältlich ist.

Welche Teile der internationalen Anmeldung können geändert werden?

Im Rahmen von Artikel 19 können nur die Ansprüche geändert werden.

In der internationalen Phase können die Ansprüche auch nach Artikel 34 vor der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde geändert (oder nochmals geändert) werden. Die Beschreibung und die Zeichnungen können nur nach Artikel 34 vor der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde geändert werden.

Beim Eintritt in die nationale Phase können alle Teile der internationalen Anmeldung nach Artikel 28 oder gegebenenfalls Artikel 41 geändert werden.

Bis wann sind Änderungen einzureichen?

Innerhalb von zwei Monaten ab der Übermittlung des internationalen Recherchenberichts oder innerhalb von sechzehn Monaten ab dem Prioritätsdatum, je nachdem, welche Frist später abläuft. Die Änderungen gelten jedoch als rechtzeitig eingereicht, wenn sie dem Internationalen Büro nach Ablauf der maßgebenden Frist, aber noch vor Abschluß der technischen Vorbereitungen für die internationale Veröffentlichung (Regel 46.1) zugehen.

Wo sind die Änderungen nicht einzureichen?

Die Änderungen können nur beim Internationalen Büro, nicht aber beim Anmeldeamt oder der Internationalen Recherchenbehörde eingereicht werden (Regel 46.2).

Falls ein Antrag auf internationale vorläufige Prüfung eingereicht wurde/wird, siehe unten.

In welcher Form können Änderungen erfolgen?

Eine Änderung kann erfolgen durch Streichung eines oder mehrerer ganzer Ansprüche, durch Hinzufügung eines oder mehrerer neuer Ansprüche oder durch Änderung des Wortlauts eines oder mehrerer Ansprüche in der eingereichten Fassung.

Für jedes Anspruchsblatt, das sich aufgrund einer oder mehrerer Änderungen von dem ursprünglich eingereichten Blatt unterscheidet, ist ein Ersatzblatt einzureichen.

Alle Ansprüche, die auf einem Ersatzblatt erscheinen, sind mit arabischen Ziffern zu numerieren. Wird ein Anspruch gestrichen, so brauchen, die anderen Ansprüche nicht neu nummeriert zu werden. Im Fall einer Neunummerierung sind die Ansprüche fortlaufend zu numerieren (Verwaltungsrichtlinien, Abschnitt 205 b)).

Die Änderungen sind in der Sprache abzufassen, in der die internationale Anmeldung veröffentlicht wird.

Welche Unterlagen sind den Änderungen beizufügen?

Begleitschreiben (Abschnitt 205 b)):

Die Änderungen sind mit einem Begleitschreiben einzureichen.

Das Begleitschreiben wird nicht zusammen mit der internationalen Anmeldung und den geänderten Ansprüchen veröffentlicht. Es ist nicht zu verwechseln mit der "Erklärung nach Artikel 19(1)" (siehe unten, "Erklärung nach Artikel 19 (1)").

Das Begleitschreiben ist nach Wahl des Anmelders in englischer oder französischer Sprache abzufassen. Bei englischsprachigen internationalen Anmeldungen ist das Begleitschreiben aber ebenfalls in englischer, bei französischsprachigen internationalen Anmeldungen in französischer Sprache abzufassen.

ANMERKUNGEN ZU FORMBLATT PCT/ISA/220 (Fortsetzung)

Im Begleitschreiben sind die Unterschiede zwischen den Ansprüchen in der eingereichten Fassung und den geänderten Ansprüchen anzugeben. So ist insbesondere zu jedem Anspruch in der internationalen Anmeldung anzugeben (gleichlautende Angaben zu verschiedenen Ansprüchen können zusammengefaßt werden), ob

- i) der Anspruch unverändert ist;
- ii) der Anspruch gestrichen worden ist;
- iii) der Anspruch neu ist;
- iv) der Anspruch einen oder mehrere Ansprüche in der eingereichten Fassung ersetzt;
- v) der Anspruch auf die Teilung eines Anspruchs in der eingereichten Fassung zurückzuführen ist.

Im folgenden sind Beispiele angegeben, wie Änderungen im Begleitschreiben zu erläutern sind:

1. [Wenn anstelle von ursprünglich 48 Ansprüchen nach der Änderung einiger Ansprüche 51 Ansprüche existieren]:
"Die Ansprüche 1 bis 29, 31, 32, 34, 35, 37 bis 48 werden durch geänderte Ansprüche gleicher Numerierung ersetzt; Ansprüche 30, 33 und 36 unverändert; neue Ansprüche 49 bis 51 hinzugefügt."
2. [Wenn anstelle von ursprünglich 15 Ansprüchen nach der Änderung aller Ansprüche 11 Ansprüche existieren]:
"Geänderte Ansprüche 1 bis 11 treten an die Stelle der Ansprüche 1 bis 15."
3. [Wenn ursprünglich 14 Ansprüche existierten und die Änderungen darin bestehen, daß einige Ansprüche gestrichen werden und neue Ansprüche hinzugefügt werden]:
Ansprüche 1 bis 6 und 14 unverändert; Ansprüche 7 bis 13 gestrichen; neue Ansprüche 15, 16 und 17 hinzugefügt. "Oder" Ansprüche 7 bis 13 gestrichen; neue Ansprüche 15, 16 und 17 hinzugefügt; alle übrigen Ansprüche unverändert."
4. [Wenn verschiedene Arten von Änderungen durchgeführt werden]:
"Ansprüche 1-10 unverändert; Ansprüche 11 bis 13, 18 und 19 gestrichen; Ansprüche 14, 15 und 16 durch geänderten Anspruch 14 ersetzt; Anspruch 17 in geänderte Ansprüche 15, 16 und 17 unterteilt; neue Ansprüche 20 und 21 hinzugefügt."

"Erklärung nach Artikel 19(1)" (Regel 46.4)

Den Änderungen kann eine Erklärung beigefügt werden, mit der die Änderungen erläutert und ihre Auswirkungen auf die Beschreibung und die Zeichnungen dargelegt werden (die nicht nach Artikel 19 (1) geändert worden können).

Die Erklärung wird zusammen mit der internationalen Anmeldung und den geänderten Ansprüchen veröffentlicht.

Sie ist in der Sprache abzufassen, in der die internationale Anmeldung veröffentlicht wird.

Sie muß kurz gehalten sein und darf, wenn in englischer Sprache abgefaßt oder ins Englische übersetzt, nicht mehr als 500 Wörter umfassen.

Die Erklärung ist nicht zu verwechseln mit dem Begleitschreiben, das auf die Unterschiede zwischen den Ansprüchen in der eingereichten Fassung und den geänderten Ansprüchen hinweist, und ersetzt letzteres nicht. Sie ist auf einem gesonderten Blatt einzureichen und in der Überschrift als solche zu kennzeichnen, vorzugsweise mit den Worten "Erklärung nach Artikel 19 (1)".

Die Erklärung darf keine herabsetzenden Äußerungen über den internationalen Recherchenbericht oder die Bedeutung von in dem Bericht angeführten Veröffentlichungen enthalten. Sie darf auf im internationalen Recherchenbericht angeführte Veröffentlichungen, die sich auf einen bestimmten Anspruch beziehen, nur im Zusammenhang mit einer Änderung dieses Anspruchs Bezug nehmen.

Auswirkungen eines bereits gestellten Antrags auf internationale vorläufige Prüfung

Ist zum Zeitpunkt der Einreichung von Änderungen nach Artikel 19 bereits ein Antrag auf internationale vorläufige Prüfung gestellt worden, so sollte der Anmelder in seinem Interesse gleichzeitig mit der Einreichung der Änderungen beim Internationalen Büro auch eine Kopie der Änderungen bei der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde einreichen (siehe Regel 62.2 a), erster Satz).

Auswirkungen von Änderungen hinsichtlich der Übersetzung der internationalen Anmeldung beim Eintritt in die nationale Phase

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, daß bei Eintritt in die nationale Phase möglicherweise anstatt oder zusätzlich zu der Übersetzung der Ansprüche in der eingereichten Fassung eine Übersetzung der nach Artikel 19 geänderten Ansprüche an die bestimmten/ausgewählten Ämter zu übermitteln ist.

Nähere Einzelheiten über die Erfordernisse jedes bestimmten/ausgewählten Amtes sind Band II des PCT-Leitfadens für Anmelder zu entnehmen.

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts K 2747 - hu/msl	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5	
Internationales Aktenzeichen PCT/DE 99/03517	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 29/10/1999	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 29/10/1998
Anmelder DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM et al.		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 3 Blätter.

☒ Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

1. Grundlage des Berichts

- a. Hinsichtlich der **Sprache** ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

☐ Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.

- b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das

☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.

☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerisierter Form eingereicht worden ist.

☒ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.

☒ bei der Behörde nachträglich in computerisierter Form eingereicht worden ist.

☒ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.

☒ Die Erklärung, daß die in computerisierter Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2. ☐ Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen (siehe Feld I).

3. ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).

4. Hinsichtlich der Bezeichnung der Erfindung

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

5. Hinsichtlich der Zusammenfassung

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Folgende Abbildung der Zeichnungen ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. _____

☐ wie vom Anmelder vorgeschlagen

☐ weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.

☐ weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.

☒ keine der Abb.

INTERNATIONALER RESEARCHENBERICHT

Intern. Aktenzeichen

PCT/99/03517

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES IPK 7 C07K16/08 C12N15/86 C07K19/00 C12N5/20 A61K48/00 //A61K31/505,C07K16/22		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK		
B. RECHERCHIERTE GEBIETE Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) IPK 7 C07K C12N A61K		
Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen		
Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)		
C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 95 11997 A (DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM) 4. Mai 1995 (1995-05-04) ✓ Ansprüche 8,15-21	1-6,9
X	WISTUBA A ET AL: "Intermediates of Adeno-Associated Virus type 2 assembly: Identification of soluble complexes containing Rep and Cap proteins." JOURNAL OF VIROLOGY, (1995 SEP) 69 (9) 5311-9, XP002135909 Seite 5312, rechte Spalte, Zeile 7 - Zeile 69 Abbildungen 6,7	1-6,9

-/-		
<input checked="" type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen		
<input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie		
* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen : "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist "E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt) "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist "T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist "X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden "Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist "&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche		Absenddatum des internationalen Recherchenberichts
17. April 2000		08/05/2000
Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patantaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Bevollmächtigter Bediensteter Le Flao, K

INTERNATIONALER FORSCHUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/99/03517

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Beitr. Anspruch Nr.
P,X	BARTLETT J ET AL: "Targeted adeno-associated virus vector transduction of nonpermissive cells mediated by a bispecific F(ab'gamma)2 antibody." NATURE BIOTECHNOLOGY, (1999 FEB) 17, 181-6, XP002135910 ✓ Seite 182, Zeile 21 - Zeile 36 -----	1-12
T ✓	WO 99 67393 A (MEDIGENE AKTIENGESELLSCHAFT) ✓ 29. Dezember 1999 (1999-12-29) Ansprüche 1-24 -----	1-12

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die der selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/99/03517

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9511997 A	04-05-1995	AT 188746 T	15-01-2000
		CA 2175256 A	04-05-1995
		DE 69422634 D	17-02-2000
		EP 0725837 A	14-08-1996
		JP 9504173 T	28-04-1997
WO 9967393 A	29-12-1999	DE 19827457 C	02-03-2000

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Assistant Commissioner for Patents
United States Patent and Trademark
Office
Box PCT
Washington, D.C.20231
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year) 29 June 2000 (29.06.00)	
International application No. PCT/DE99/03517	Applicant's or agent's file reference K 2747 - hu/msl
International filing date (day/month/year) 29 October 1999 (29.10.99)	Priority date (day/month/year) 29 October 1998 (29.10.98)
Applicant KLEINSCHMIDT, Jürgen et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

26 May 2000 (26.05.00)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:2. The election ☒ was☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Authorized officer Christelle Croci Telephone No.: (41-22) 338.83.38
---	--

PCTWELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales BüroINTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation ⁷: C07K 16/08, C12N 15/86, C07K 19/00, C12N 5/20, A61K 48/00 // A61K 31/505, C07K 16/22	A3	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 00/26254 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 11. Mai 2000 (11.05.00)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE99/03517 (22) Internationales Anmeldedatum: 29. Oktober 1999 (29.10.99) (30) Prioritätsdaten: 198 49 643.5 29. Oktober 1998 (29.10.98) DE (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM STIFTUNG DES ÖFFENTLICHEN RECHTS [DE/DE]; Im Neuenheimer Feld 280, D-69120 Heidelberg (DE). (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): KLEINSCHMIDT, Jürgen [DE/DE]; Wehwiesenberg 5, D-69245 Bammental (DE). WOBUS, Christiane [DE/DE]; Heidelberger Strasse 34, D-69126 Heidelberg (DE). KERN, Andrea [DE/DE]; Auf der Spreit 25, D-74930 Ittlingen (DE). (74) Anwalt: HUBER, Bernard; Huber & Schüssler, Truderinger Strasse 246, D-81825 München (DE).	(81) Bestimmungsstaaten: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DK, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG). Veröffentlicht Mit internationalem Recherchenbericht. (88) Veröffentlichungsdatum des internationalen Recherchenberichts: 3. August 2000 (03.08.00)	
(54) Title: ANTIBODIES BINDING TO THE AAV CAPSID, ANTIBODIES MODIFYING CYTOTROPISM, METHOD FOR TARGETED GENE TRANSFER (54) Bezeichnung: AN DAS AAV-KAPSID BINDENDER, DEN ZELLTROPISMUS VERÄNDERNDER ANTIKÖRPER UND VERFAHREN ZUM GERICHTETEN GENTRANSFER (57) Abstract The invention relates to monoclonal antibodies or fragments thereof binding to the capsid of adeno associated viruses, whereby the virus is preventing from binding to the virus receptor of the original target cell. Said antibody or fragment thereof can also be fused with a desired receptor ligand. After the binding of one such antibody to the AAV capsid, it is possible to obtain an AAV that has a modified cytotropism, i.e. can bind to a new target cell depending upon the fused ligand and can be used in the construction of an AAV vector for targeted gene transfer. (57) Zusammenfassung Die Erfindung betrifft monoklonale Antikörper oder Fragmente davon, die an das Kapsid von Adeno-assoziierten Viren binden, wodurch die Bindung des Virus an den Virusrezeptor der ursprünglichen Zielzelle verhindert wird. Dieser Antikörper oder das Fragment davon können außerdem mit einem gewünschten Rezeptorliganden fusioniert werden. Nach Bindung eines solchen Antikörpers an das AAV-Kapsid wird ein AAV erhalten, das über einen veränderten Tropismus verfügt, also - in Abhängigkeit von dem fusionierten Liganden - an eine neue Zielzelle binden kann und zur Konstruktion eines AAV-Vektors für gerichteten Gentransfer verwendet werden kann.		

28. Oktober 1999

Unser Zeichen: K 2747 - hu / msl

**An das AAV-Kapsid bindender, den Zelltropismus verändernder
Antikörper und Verfahren zum gerichteten Gentransfer**

Die vorliegende Erfindung betrifft Antikörper oder Fragmente
5 davon, die an das Kapsid von Adeno-assoziierten Viren (AAV)
binden, wodurch die Bindung des Virus an den Virusrezeptor der
ursprünglichen Zielzelle verhindert wird. Diese(r) Antikörper
oder (das) Fragment(e) davon können außerdem als Adaptoren für
die Fusionierung mit einem gewünschten Rezeptorliganden die-
10 nen. Nach Bindung eines solchen Antikörpers an das AAV-Kapsid
wird ein AAV erhalten, das über einen veränderten Tropismus
verfügt, also - in Abhängigkeit von dem fusionierten Liganden
- an eine neue Zielzelle binden kann. Die vorliegende
Erfindung betrifft somit ferner AAV-Vektoren, an deren Kapsid
15 der erfindungsgemäße Antikörper oder das Fragment davon
gebunden sind. Diese Vektoren können für einen gerichteten
Gentransfer verwendet werden. Schließlich betrifft die vor-
liegende Erfindung ein Verfahren zum gerichteten Gentransfer
unter Verwendung dieses AAV-Vektors.

20 Das erste Ereignis bei einer viralen Infektion stellt die
Bindung des Virus an die Wirtszelloberfläche dar. Die
Zelloberflächenmoleküle, an die die Viren binden, werden
Virusrezeptoren genannt, während die viralen Proteine, die an
25 dieser Bindung beteiligt sind, als virale Anheftungsproteine
(VAP = "viral cell attachment protein") oder virale Liganden
bezeichnet werden. Das Studium der Interaktion zwischen
Virusrezeptoren und viralen Liganden hat in den letzten Jahren
wachsendes Interesse gefunden, da aus den Kenntnissen dieser
30 Interaktion nicht nur wichtige Hinweise für die Prävention von
viralen Infektionen gewonnen, sondern solche Kenntnisse u.U.
auch für die gezielte Manipulation der Infektion mit viralen
Vektoren genutzt werden können.

35 Die Identifizierung einer größeren Anzahl viraler Rezeptoren

28. Oktober 1999

2

förderte eine Reihe von Gemeinsamkeiten bei der Infektion verschiedener Viren zutage. So benutzen verschiedene Viren Mitglieder derselben Familie von Zelloberflächenmolekülen als virale Rezeptoren, wie z.B. Mitglieder der IgG-Superfamilie, der "multimembrane spanning transporter", der Integrine oder von Wachstumsrezeptoren. Außerdem wurde in einigen Fällen klar, daß dieselben Viren nicht nur mehrere Rezeptormoleküle benutzen können, sondern für die erfolgreiche Infektion der Zielzelle tatsächlich die Interaktion mit mehreren Rezeptoren auch benötigt wird. Um das Infektionsereignis zu verstehen und gegebenenfalls manipulieren zu können, ist es daher vor allem notwendig, die viralen Anheftungsproteine und möglichst die Anheftungssequenzen zu kennen. Innerhalb der Familie der Parvoviren wurde für das autonome Parvovirus B19 das Erythrozyten P Antigen als Rezeptor beschrieben (Brown et al., Science 262, S. 114-117, 1993) und für das helperabhängige AAV-2 wurde Heparan Sulfat Proteoglycan als zelluläres Rezeptormolekül ermittelt (Summerford und Samulski, J. Virol. 72 (2), S. 1438-1445, 1998).

Für einen Gentransfer werden bis heute vorzugsweise virale Vektoren, beispielsweise retrovirale Vektoren, adenovirale Vektoren oder Vektoren, die von Adeno-assoziierten Viren abgeleitet sind, benutzt. Ein Nachteil der bisherigen Verfahren liegt darin, daß es bisher kaum möglich war, das Virus so zu modifizieren, daß (nur) die gewünschte Zielzelle transduziert wird (gerichteter Gentransfer) und die unerwünschte Transduktion von Nicht-Zielzellen vermieden wird. Eine Erweiterung bzw. Veränderung des Zielzellspektrums (d.h. des Tropismus) könnte nicht nur die Effizienz des Gentransfers erhöhen, sondern darüber hinaus sowohl ex vivo als auch in vivo Zugang zu schwer transduzierbaren Zelltypen schaffen. Somit kommt der Entwicklung von möglichst selektiven Gentransfermethoden eine immer größere Bedeutung zu. Dabei tritt neben den Elementen der intrazellulären Spezifität, die beispielsweise durch Steuerung der Genexpression mittels gewebe- oder zellspezifischer Promotoren erreicht werden kann, immer mehr der gerichtete Gentransfer in den Vordergrund.

28. Oktober 1999

3

Zu den bisher für einen Gentransfer verwendeten Vektoren zählen auch die auf AAV basierenden Vektoren. AAV ist ein menschliches Parvovirus, das aus einem nicht-umhüllten ikosaedrischen Kapsid mit einem einzelsträngigen DNA-Genom (ca. 4,6 Kb) besteht. Es besitzt einen breiten Wirtsbereich und ist in der Lage, sein Genom in eine bevorzugte Stelle des Wirtszellgenoms zu integrieren, wenn kein Helfervirus vorhanden ist (Kotin et al., PNAS USA 87(6), S. 2211-2215, 1990). Die Überinfektion mit einem Helfervirus (z.B. Adenovirus oder Herpesvirus) mobilisiert das latente AAV und induziert eine Amplifikation des AAV-Genoms. Etwa 70% der Bevölkerung haben Antikörper gegen AAV, für das jedoch keine pathogenen Eigenschaften bekannt sind. Die von AAV abgeleiteten Vektoren bestehen lediglich aus den beiden 145 bp langen terminalen Wiederholungen, die die Signale in cis für Replikation, Verpackung und Integration tragen. Zwischen diese beiden Elemente können bis zu ca. 4,5 Kb Fremd-DNA inseriert werden. Zur Verpackung in rekombinante virale Vektoren (rAAV) sind in trans die rep- und cap-Gene, sowie ein Helfervirus erforderlich. Obwohl in den letzten Jahren mehrere verbesserte Verfahren zur Vektorproduktion veröffentlicht wurden, ist die relativ aufwendige Herstellung von AAV-Vektoren immer noch eines der Haupthindernisse für eine breitere Anwendung dieses Vektorsystems. In jüngster Zeit konnte jedoch mit der Herstellung von rAAV ohne Helfervirus eine entscheidende Verbesserung und Vereinfachung des Produktionsverfahrens erzielt werden (Xiao et al., J. Virol. 72(3), S. 2224-2232, 1998).

AAV-Vektoren vereinigen eine Reihe von Vorteilen: Sie enthalten keine viralen Gene, besitzen stabile Kapside, haben einen breiten Wirtsbereich und sind in der Lage, sowohl proliferierende Zellen als auch ruhende Zellen zu infizieren. Insbesondere erlauben sie eine Langzeitexpression von eingeschleusten Genen in die differenzierten Gewebe, z.B. Muskel, Gehirn und Retina, ohne nennenswerte Immunantwort des Wirts.

28. Oktober 1999

4

Die Nachteile der Verwendung von AAV-Vektoren für den Gentransfer liegen jedoch u.a. darin, daß zwar AAV einen breiten Wirtsbereich besitzt, sich jedoch manche Zelltypen, beispielsweise haematopoietische Stammzellen und dendritische Zellen, nur unbefriedigend transduzieren lassen. Außerdem wäre natürlich für in vivo-Anwendungen grundsätzlich die Möglichkeit eines selektiven Gentransfers mit AAV wünschenswert. Allerdings liegen bisher kaum Kenntnisse über die Determinanten des Zell- und Gewebetropismus von AAV vor, wie z.B. über virale Anheftungsproteine oder Anheftungssequenzen und somit gibt es bisher keine Möglichkeit, AAV hinsichtlich eines selektiven Gentransfers zu manipulieren.

Somit liegt der vorliegenden Erfindung die Aufgabe zugrunde, AAV-Vektoren bereitzustellen, mit denen ein selektiver Gentransfer erreicht werden kann.

Diese Aufgabe wird durch die Gegenstände der Patentansprüche gelöst.

In der vorliegenden Erfindung wurden monoklonale Antikörper erzeugt, die gegen die Bindungsstellen (Ligandensequenzen) der AAV-Kapsidproteine gerichtet sind. Es konnte gezeigt werden, daß nach Bindung dieser Antikörper an AAV die Infektion der ursprünglichen Zielzelle unterblieb und die Bindung des AAV an den Virusrezeptor der ursprünglichen Zielzelle blockiert wurde. Desweiteren konnten die Bindungseigenschaften von AAV-Kapsiden dadurch modifiziert werden, daß ausgehend von den vorstehend erwähnten Antikörpern Fusionspolypeptide-(z.B. Fab-Fragmente des monoclonalen Antikörpers verknüpft mit neuen Ligandensequenzen) oder Einzelketten-Antikörper-Fusionsproteine hergestellt wurden, und diese an die AAV-Kapside gebunden wurden. Es konnte gezeigt werden, daß AAV-Vektoren mit solchen Kapsiden nur die gewünschte Zielzelle transfizierten und somit für einen selektiven Gentransfer geeignet sind.

28. Oktober 1999

5

Somit betrifft die vorliegende Erfindung einen monoklonalen Antikörper, der dadurch gekennzeichnet ist, daß er an das Kapsid eines Adeno-assoziierten Virus (AAV) bindet und die Bindung des Virus an den Virusrezeptor der ursprünglichen Zielzelle verhindert.

Der hier verwendete Ausdruck "Kapsid" bezeichnet die icosaedrische Proteinhülle, die das AAV-Genom umgibt und typischerweise aus den Strukturproteinen VP1, VP2 und VP3 aufgebaut ist.

Der hier verwendete Ausdruck "ursprüngliche Zielzelle" bezeichnet jede Zelle, an die das unmodifizierte AAV bindet.

Zu den AAV zählen folgende Typen: AAV-1, AAV-2, AAV-3, AAV-4, AAV-5 und AAV-6. Für die Zwecke eines Gentransfers sind dabei folgende Gruppen besonders geeignet: AAV-2, AAV-3, AAV-4, AAV-5 und AAV-6.

Die Verhinderung der Bindung des AAV an den Virusrezeptor der ursprünglichen Zielzelle kann durch mehrere Verfahren bestimmt werden. Verschiedene radioaktive sowie nicht-radioaktive Bindungstests sind in den letzten Jahren entwickelt worden, um die Bindung eines Virus an seine Zielzelle zu bestimmen. Diese Verfahren sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung anwendbar. In den meisten Ansätzen werden in radioaktiven Tests ¹²⁵I oder ³⁵S markierte Viruspartikel mit Zellen inkubiert und später die mit den Zellen verbleibende Radioaktivität gemessen (Summerford, C and Samulski, R. J. 1998, Journal of Virology 72, 1438-1445; Grubman, M. J. et al. 1985, Journal of Virology 56, 120-126; Abraham, G. et al. 1988, Journal of Virology 62, 2300-2306; Greve, J. M. et al. 1989, Cell 56, 839-847). Andere radioaktive Bindungstest basieren auf Blot-Assays, in denen Zellextrakte auf eine Nitrozellulosemembran aufgedotted oder nach SDS-PAGE geblotted werden und diese dann mit radioaktiv markierten Viren inkubiert werden. Gebundene Viren können nach Exposition auf einem Röntgen-Film nachgewiesen werden (Bass, D. M. et al. 1991, Virology 183, 602-610; Roivainen, M. et al.

28. Oktober 1999

6

1994, Virology 302, 357-365). Weniger Ansätze wurden mit nicht-radioaktiven Bindungstests durchgeführt. Zum Beispiel benutzten Mizukami et al. (Virology 217, 124-130, 1996) biotinylierte AAV anstelle radioaktiv markierter Viren, die mit Hilfe von markiertem Streptavidin nachgewiesen wurden. Herrmann et al. (Journal of Virology 69, 6797-6804, 1995) messen die Bindung von B-lymphotrophen Papovaviren an B-lymphome Zelllinien mittels eines Kapsidprotein-ELISA's während Trešnaň et al. (Virology 211, 123-132, 1995) die von leeren Kapsiden des Canine Parvovirus gebundenen Zellen durch FACS-Analyse bestimmen. Mit Hilfe dieser Bindungstests kann nicht nur die direkte Bindung von Viren an die Zelle bestimmt werden, sondern auch die Blockierung dieser Bindung durch monoklonale Antikörper (Mak) untersucht werden. Dabei werden Zellen mit Mak inkubiert bevor eine Inkubation mit radioaktiv markierten Viren erfolgt und die an Zellen gebundene Radioaktivität gemessen wird (Roden, R. B. S. et al. 1994, Journal of Virology 68, 7570-7574; Shepley, M. P. et al. 1988, Proceedings of the National Academy of Sciences USA 85, 7743-7747; Bergelson, J. M. et al. 1992, Science 255, 1718-1720). Brown, K. E. et al. (Science 262, 114-117, 1993) bestimmt über "colony-forming units" Maks, welche die Bindung des B19 Parvovirus an die Zelle unterbinden.

Vorzugsweise wurden die in der vorliegenden Patentanmeldung beschriebenen monoklonalen Antikörper über einen weiteren nicht radioaktiven Ansatz isoliert. Dieser wird nachfolgend anhand von AAV-2 beschrieben, was jedoch nicht als darauf beschränkt auszulegen ist. Der nicht-radioaktive Bindungsassay wurde speziell für die Isolierung von monoklonalen Antikörpern entwickelt, welche die Bindung von AAV-2 an die Zelle inhibieren. Im diesem Test wurden AAV-2 Viren mit Hybridomüberständen vorinkubiert, um dann mit Zellen inkubiert zu werden. Diese Zellen mit den an sie gebundenen Viren wurden fixiert und unspezifische Bindungsstellen geblockt, um dann die gebundenen Viren mittels Kapsid-ELISAs nachzuweisen. In dem Kapsid-ELISA wird ein an AAV-2 bindender, biotinylierter monoklonaler Antikörper benutzt, der durch Streptavidin-

28. Oktober 1999

7

Peroxidase nachgewiesen werden kann. Beim "screening" der Hybridomüberstände wurde nach einem negativen ELISA Ergebnis gesucht. Wenn der gesuchte monoklonale Antikörper in der Lage ist, an AAV-2 zu binden und die Bindung des Virus an die Zelle zu verhindern, wird kein Signal im ELISA erzielt, da nur AAV-2 Partikel, welche an Zellen binden, nachgewiesen werden.

Nicht-Bindung eines Virus hat Nicht-Infektion zur Folge. Allerdings sind diese beiden Vorgänge nicht identisch, da ein Virus Zellen binden kann, jedoch nicht gleichzeitig in die Zelle aufgenommen werden muß, was deren Infektion zur Folge hätte.

Verfahren zur Gewinnung von Antikörpern sind dem Fachmann bekannt. Die Herstellung von monoclonalen Antikörpern umfaßt beispielsweise als ersten Schritt die Herstellung von polyclonalen Antikörpern unter Verwendung von AAV-Kapsidproteinen oder Fragmenten davon (beispielsweise synthetische Peptide) mit geeigneten Ligandensequenzen, beispielsweise die in den Beispielen beschriebenen Peptide oder Fragmente davon, als Immunogen zur Immunisierung geeigneter Tiere und die Gewinnung von gegen das definierte Antigen Antikörper produzierenden Zellen, z.B. sensibilisierten B-Lymphozyten. Dann werden beispielsweise Zell-Hybride aus Antikörper produzierenden Zellen und Knochenmark-Tumorzellen (Myelomzellen) hergestellt und cloniert. Anschließend wird ein Clon selektioniert, der einen Antikörper produziert, der für das verwendete Antigen spezifisch ist. Dieser Antikörper wird dann hergestellt. Beispiele von Zellen, die Antikörper produzieren, sind Milzzellen, Lymphknotenzellen, B-Lymphozyten etc.. Beispiele von Tieren, die zu diesem Zweck immunisiert werden können, sind Mäuse, Ratten, Pferde, Ziegen und Kaninchen. Die Myelomzellen lassen sich aus Mäusen, Ratten, Menschen oder anderen Quellen erhalten. Die Zellfusion kann man beispielsweise durch das allgemein bekannte Verfahren von Köhler und Milstein durchführen. Die durch Zellfusion erhaltenen Hybridome werden mittels dem Antigen nach dem Enzym-Antikörper-Verfahren oder

28. Oktober 1999

8

nach einem ähnlichen Verfahren abgesucht. Clone werden beispielsweise mit dem Grenz-Verdünnungsverfahren erhalten. Die erhaltenen Clone werden beispielsweise BALB/c-Mäusen intraperitoneal implantiert, nach 10 bis 14 Tagen wird der Ascites der Maus entnommen, und der monoclonale Antikörper durch bekannte Verfahren (beispielsweise Ammoniumsulfatfraktionierung, PEG-Fraktionierung, Ionenaustauschchromatographie, Gelchromatographie oder Affinitätschromatographie) gereinigt.

Der gewonnene Antikörper kann direkt verwendet werden oder es kann ein Fragment davon verwendet werden. In diesem Zusammenhang bedeutet der Begriff "Fragment" alle Teile des monoclonalen Antikörpers (z.B. Fab-, Fv- oder "single chain Fv"-Fragmente), welche die gleiche Epitopspezifität wie der vollständige Antikörper aufweisen. Die Herstellung solcher Fragmente ist dem Fachmann bekannt.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform ist der genannte monoclonale Antikörper ein aus einem Tier (z.B. Maus) stammender Antikörper, ein humanisierter Antikörper, ein chimärer Antikörper, ein humaner Antikörper oder ein Fragment davon. Chimäre, menschlichen Antikörper ähnelnde oder humanisierte Antikörper besitzen eine herabgesetzte potentielle Antigenität, jedoch ist ihre Affinität gegenüber dem Ziel nicht herabgesetzt. Die allgemeine Herstellung von chimären und humanisierten Antikörpern bzw. von menschlichen Antikörpern ähnelnden Antikörpern wurde ausführlich beschrieben (siehe beispielsweise Queen et al., PNAS USA 86, S. 10029, 1989; Verhoeyan et al., Science 239, S. 1534, 1988). Humanisierte Immunglobuline weisen variable Grundgerüstbereiche auf, die im wesentlichen von einem humanen Immunglobulin stammen (mit der Bezeichnung Akzeptor-Immunglobulin) und die Komplementarität der determinierenden Bereiche, die im wesentlichen von einem nicht-menschlichen Immunglobulin (z.B. von der Maus) stammen (mit der Bezeichnung Donor-Immunglobulin). Die (der) konstante(n) Bereich(e) stammt/stammen, falls vorhanden, auch im wesentlichen von

28. Oktober 1999

9

einem menschlichen Immunglobulin. Bei der Verabreichung an menschliche Patienten bieten humanisierte (sowie humane) Antikörper eine Reihe von Vorteilen gegenüber Antikörpern von Mäusen oder anderen Spezies: (a) das menschliche Immunsystem sollte das Grundgerüst oder den konstanten Bereich des humanisierten Antikörpers nicht als fremd erkennen und daher sollte die Antikörper-Antwort gegen einen solchen injizierten Antikörper geringer ausfallen als gegen einen vollständig fremden Maus-Antikörper oder einen partiell fremden chimären Antikörper; (b) da der Effektorbereich des humanisierten Antikörpers menschlich ist, dürfte er mit anderen Teilen des menschlichen Immunsystems besser interagieren, und (c) injizierte humanisierte Antikörper weisen eine Halbwertszeit auf, die im wesentlichen zu der von natürlich vorkommenden menschlichen Antikörpern äquivalent ist; was es erlaubt, kleinere und weniger häufige Dosen im Vergleich zu Antikörpern anderer Spezies zu verabreichen. Diese Vorteile gelten natürlich ebenso für humane Antikörper.

In einer weiteren besonders bevorzugten Ausführungsform handelt es sich bei dem erfindungsgemäßen Antikörper um einen Antikörper oder ein Fragment davon, der an das Kapsid von AAV-2, AAV-3, AAV-4, AAV-5 oder AAV-6 bindet und die Bindung des Virus an den Virusrezeptor der ursprünglichen Zielzelle verhindert.

Besonders bevorzugt sind unter den vorstehend beschriebenen Antikörpern oder Fragmenten davon solche, die an die Kapsidproteine VP1, VP2 und VP3, insbesondere im Bereich der Aminosäuren 449-475, 545-556 und 585-598 (bezogen auf VP1 von AAV-2), binden.

Erfindungsgemäße Antikörper können aus den bei der DSMZ, Mascheroder Weg, Braunschweig unter den Nummern ACC 2369 (ergibt C24-B) und ACC 2370 (ergibt C37-B) am 19. August 1998 hinterlegten Hybridoma-Zelllinien gewonnen werden. Diese sind gegen AAV-2 gerichtet.

28. Oktober 1999

10

Die vorliegende Erfindung betrifft ferner die vorstehend beschriebenen monoclonalen Antikörper, die außerdem dadurch gekennzeichnet sind, daß sie mit einem gewünschten Rezeptorliganden fusioniert sind und somit dazu dienen können, AAV-Vektoren mit einem erweiterten bzw. reduzierten Wirtsbereich - in Abhängigkeit von der eingeführten neuen Ligandensequenz - zu konstruieren. Als Rezeptorliganden eignen sich alle Liganden, die eine Erweiterung bzw. Reduzierung und somit eine gezielte Veränderung des Wirtsbereichs bewirken. Es eignen sich hierfür auch Liganden, die vorrangig an Rezeptoren von malignen Zellen binden. Hier kommen zum Beispiel die folgenden Liganden in Frage:

- Folat, da der Folatrezeptor vermehrt in Gebärmutter-Lungen- und Brust-Karzinomen, sowie Gehirntumoren exprimiert wird,
 - "Fibroblast Growth Factor" (FGF), da der "high-affinity" FGF Rezeptor in malignen Zelllinien (z.B. SKOV 3.ip1 eine menschliche Gebärmuttertumor-zelllinie) und Primärzellen (z.B. Kaposi's Sarkoma Zellen) sowie proliferierenden Endothelzellen in Tumoren zu finden ist.
 - RGD Peptidmotive, die an α_v -Integrine binden, welche fast ausschließlich an Endothelzellen von angiogenen Kapillaren in Tumoren
(Melanomen, Karzinomen, Sarkomen)
 - Epidermal Growth Factor (EGF)
 - CD 19
- zu finden sind.

Neben Rezeptorliganden, die sich zum "Targeting" von Tumorzellen eignen, sind auch Liganden für jene Rezeptoren von großer Bedeutung, die die Infektion von Zielzellen erlauben, welche die Behandlung von genetischen Krankheiten ermöglichen. Hier seien z.B. genannt:

- "anti-human secretory component Fab fragments". Sie binden an den "polymeric immunoglobulin receptor" (pIGR) zum Gentransfer in Epithelzellen der Atemwege

28. Oktober 1999

11

als Behandlungsmethode der zystischen Fibrose,

- Asialoglycoprotein (ASGP) zum Gentransfer in die Leber.
 - Erythropoietin, zum "Targeting" von
- 5 hematopoietischen Zellen, die den Erythropoietin-Rezeptor tragen, beispielsweise für die Behandlung von Sichelzell-Anämie.

10 Weiterhin gibt es monoklonale Antikörper, die anstelle von Liganden spezifisch an bestimmte Rezeptoren binden. Diese sind außerdem als potentielle Fusionspartner an die erfindungsgemäßen monoklonalen Antikörper von großer Bedeutung.

15 Zur Konstruktion dieser fusionierten Antikörper oder Fragmente davon gibt es eine Reihe von verschiedenen Möglichkeiten. Beispielsweise kann eine direkte Kopplung eines Antikörperfragments, beispielsweise eines Fab-Fragments, mit

20 den Ligandensequenzen, die an den Rezeptor der gewünschten Zielzelle binden, erfolgen. Eine große Vielfalt von Reagenzien zur chemischen Kopplung, auch "cross-linker" genannt, sind in den letzten Jahrzehnten entwickelt worden. Allgemein kann man diese Kopplungsreagenzien, welche wenigstens zwei reaktive

25 Gruppen während der Kopplung zur Verfügung stellen, in homo- und heterobifunktionale "cross-linker" unterteilen. Erstere besitzen wenigstens zwei identische reaktive Gruppen und erlauben eine Ein-Schritt-Kopplung, während letztere

30 wenigstens zwei unterschiedliche reaktive Gruppen besitzen und eine sequentielle Konjugation von Proteinen erlauben. Die am häufigsten verwendeten "cross-linker" sind homobifunktional und reagieren mit den primären Aminogruppen von Proteinen. Dazu gehören Imidoester und NHS-Ester (N-Hydroxysuccinimide).

35 NHS-Ester sind stabiler und effizienter als Imidoester und reagieren mit primären sowie sekundären Aminen, um eine Amidbindung zu formen. Weitere homobifunktionale "cross-linker" sind Sulfhydryl-Reagenzien, die mit Thiolgruppen

28. Oktober 1999

12

reagieren, sowie andere Konjugationsreagenzien, welche mit anderen reaktiven Gruppen interagieren (Arginin-spezifische oder carbonyl-spezifische "cross-linker") oder keine Selektivität zeigen (z.B. Photoaffinitätsreagenzien). Die vorstehend erwähnten "cross-linker" verbinden Proteine über Brücken, die eine unterschiedliche Entfernung der Proteine erlauben. Als Methode, bei der keine Brücken gebildet werden, ist die Carbodiimid-Methode bekannt, bei der Carboxylgruppen mit primären Aminen über eine Amidbindung verbunden werden. Bei der Auswahl von Kopplungsreagenzien müssen vor allem der Reaktionspuffer und pH in welchem der "cross-linker" aktiv ist und die Stabilität der zu koppelnden Proteine in diesem Medium in Betracht gezogen werden. Alternativ kann auch die Bindungssequenz des monoclonalen Antikörpers als Einzelketten-Antikörper cloniert werden. Der dafür entwickelte Ansatz in der Klonierung von scFv bestand in der direkten Klonierung der Antikörpergene aus Hybridom-Zelllinien. Dabei werden die variablen Bereiche der leichten und schweren Kette durch die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) mit Hilfe von antikörper-spezifischen Oligonucleotidprimern amplifiziert. (F. Breitling & S. Dübel, Rekombinante Antikörper, Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg, 1997) Die clonierten Einzelketten-Antikörper können beispielsweise an einer Phagenoberfläche innerhalb einer Phagenbank exprimiert werden, um so deren Bindung an AAV-Kapside beispielsweise mittels ELISA zu untersuchen. Nur solche Einzelketten-Antikörper, die gute Bindung zeigen, werden weiterverwendet, um sie beispielsweise in E. coli zu exprimieren. Mit den exprimierten und beispielsweise über "His-tags" gereinigten Einzelketten-Antikörpern kann dann erneut deren Fähigkeit zur Konkurrenz der Bindung des Virus an den Rezeptor der ursprünglichen Zielzelle überprüft werden. Im Anschluß daran können die so gewonnenen Einzelketten-Antikörper mit den gewünschten Ligandensequenzen oder mit einem zweiten Einzelketten-Antikörper fusioniert werden. Die Herstellung von scFv mit multivalenten sowie multifunktionellen Eigenschaften kann dabei durch verschiedene Ansätze erreicht werden. Einige scFv zeigen ein natürliches Multimerisierungspotential, wobei die

28. Oktober 1999

13

variablen Domänen eines scFv mit den komplementären Domänen eines anderen scFv miteinander binden. Andere scFv können durch die Fusion mit einem "Leucine Zipper" oder einer amphiphatischen Helix am C-terminus miteinander fusioniert werden. Ein multifunktionseller Ansatz betrifft die Fusion eines scFv mit Streptavidin. Biotinylierte Liganden, monoklonale Antikörper oder weitere scFv können nun einfach mit den scFv-Streptavidin konjugiert werden. Diese einfache Konjugation an potentielle Bindungspartner wird auch durch das Einführen von C-terminalen Cysteinen erreicht, welche über Disulfidbrücken stabile Dimere bilden. Die direkte Fusionierung von zwei scFv resultiert in einem bivalenten und bispezifischen "diabody". Hier wird die VH Domänen eines scFv über einen kurzen Linker mit der VL Domäne des anderen scFv verbunden sowie das komplementäre VH-VL Paar. (Little et al. Methods in Molecular Medicine, 555-622, Vol 13: Molecular Diagnosis of Infectious Diseases, Humana Press Inc. Totowa NJ). Nach Expression, beispielsweise in E.coli, können solche Antikörper-Fusionsproteine bzw. bivalenten Antikörper zur Herstellung von modifizierten AAV-Vektoren für den selektiven Gentransfer verwendet werden.

Die vorliegende Erfindung betrifft somit ferner einen AAV-Vektor, vorzugsweise auf AAV-2, AAV-3, AAV-4, AAV-5 oder AAV-6 basierend, der dadurch gekennzeichnet ist, daß die vorstehend beschriebenen erfindungsgemäßen monoclonalen Antikörper oder Fragmente davon an sein Kapsid gebunden ist und dieses nicht mehr an den Virusrezeptor der ursprünglichen Zielzelle binden kann, jedoch gegebenenfalls an den Virusrezeptor einer gewünschten Zielzelle. Ein solcher Vektor erlaubt die Einführung von Fremd-DNA in eine gewünschte Zielzelle. Somit betrifft die vorliegende Erfindung auch den vorstehend beschriebenen Vektor, der zusätzlich eine Fremd-DNA enthält. Dieser kann beispielsweise durch Kotransfektion eines AAV-Vektorplasmids, welches eine zu exprimierende Fremd-DNA zwischen den "inverted terminal repeats" (ITR) von AAV trägt, mit einem AAV-Helferplasmid in eine Produktionszelllinie (z.B. 293T-Zellen) und Überinfektion mit einem Helfervirus (z.B.

28. Oktober 1999

14

Ad2, Ad5 oder HSV-1) gewonnen werden (Figur 1A). Alternativ können die notwendigen Funktionen des Helfervirus auch auf dem AAV-Helferplasmid vorliegen, wodurch das Herstellungsverfahren vereinfacht wird (Figur 1B). Die zu exprimierende Fremd-DNA kann ein Reportergen oder ein therapeutisch interessantes Gen enthalten. Diese Fremd-DNA sollte eine Größe von maximal ca. 4,7 Kilobasen nicht überschreiten und kann von einem Fachmann nach seinen Wünschen ausgewählt werden. Die rekombinanten AAV-Viren (Vektoren) können durch Zellyse aus den transfizierten Zellen freigesetzt werden. Eine Modifikation der Kapside mit den beschriebenen Antikörpern kann im Zellysatz oder nach Reinigung der Vektoren durchgeführt werden kann. Die Reinigung kann über verschiedene Methoden erfolgen, die dem Fachmann bekannt sind.

Der AAV-Vektor ist vorzugsweise so modifiziert, daß er Zielzellen über verschiedene Rezeptoren binden kann. Als Zielzellen kommen z.B. Tumorzellen mit Rezeptoren wie dem Folat-Rezeptor, dem "epidermal growth factor"-Rezeptor und "fibroblast growth factor"-Rezeptor bzw. Rezeptoren von hematopoietischen Zellen, wie der Erythropoietin Rezeptor, SCF Rezeptor und CD 34 in Frage.

Die vorliegende Erfindung betrifft ferner ein Verfahren zur Herstellung des erfindungsgemäßen AAV-Vektors, das die in den vorstehenden Abschnitten beschriebenen Schritte umfaßt.

Die vorliegende Erfindung betrifft auch ein Verfahren zum gerichteten Gentransfer, das dadurch gekennzeichnet ist, daß als Vehikel für die in die gewünschte Zielzelle einzuschleusende Nucleinsäuresequenz der erfindungsgemäße AAV-Vektor verwendet wird. Die einzuschleusende Nucleinsäuresequenz kann dabei beispielsweise unter der Kontrolle eines induzierbaren und/oder reprimierbaren, zelltyp-spezifischen Promotors liegen. Die erfindungsgemäßen AAV-Vektoren können in eine Zelle, ein Gewebe, Organ, einen Patienten oder ein Tier durch eine Reihe von Verfahren eingeführt werden, z.B. durch ex vivo Inkubation der

28. Oktober 1999

15

gereinigten AAV-Vektoren mit den gewünschten Zielzellen (z.B. Maas et al. Human Gene Therapy 9,1049-1059 (1998), Zhou et al. Gene Therapy 3, 223-229 (1996), Ponnazhagan et al. Journal of Virology 71, 8262-8267 (1997)), bzw. durch direkte Injektion
5 in ein Zielgewebe (z.B. Xiao et al. Journal of Virology 70, 8098-8108, Flannery et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94, 6916-6921 (1997), During et al., Gene Therapy 5, 50-58 (1998)).

10 Schließlich können im Rahmen der vorliegenden Erfindung auch Zellen und transgene Tiere (d.h. Säuger) die bezüglich der mittels des erfindungsgemäßen AAV-Vektors eingeschleusten Nucleinsäuresequenz transgen sind, erhalten werden. Verfahren zur Herstellung solcher transgener Tiere können beispielsweise
15 in WO 91/08216 gefunden werden.

Die vorliegende Erfindung wird weiter anhand der Figur beschrieben:

20 Fig. 1 A,B: Schematische Darstellung von Verfahren zur Herstellung von AAV-Vektoren

Fig. 2: Schematische Darstellung des Tests zur Isolierung von Antikörpern, die die Bindung des Virus an die Zelle blockieren.

25 Fig. 3: "Retargeting" von AAV-2

Die nachstehenden Beispiele erläutern die Erfindung.

30 Beispiel 1: Herstellung von gegen die Ligandensequenzen gerichteten Antikörpern

Zur Herstellung von Antikörpern wurden Balb-c Mäuse wiederholt mit synthetischen Peptiden sowie mit leeren AAV-2 Kapsiden immunisiert. Die nachfolgenden vier Peptide wurden aufgrund
35 von AAV-2 Kapsidensequenzen, in denen sich AAV-2 und AAV-3 unterscheiden, synthetisiert. Die Peptide hatten die folgende Sequenz:

AAV-2-1: GPPPPKPAERHKDDSC

28. Oktober 1999

16

AAV-2-2: SRTNTPSGTTTQSRLLQFSQAGASDIRDQSC

AAV-2-3: QSGVLIFGKQGSEKTNVDIEKC

AAV-2-4: SVSTNLQRGNRQAATADVNTQC

5 Die beiden Viren AAV-2 und AAV-3 haben einen unterschiedlichen Zelltropismus, obwohl sich ihre Kapsidgensequenzen in nur vier Domänen geringfügig voneinander unterscheiden. Da Peptide nur lineare Epitope darstellen, aber die Ligandensequenz auf dem viralen Kapsid auch ein konformatives Epitope darstellen kann, wurde zusätzlich mit leeren AAV-2 Kapsiden geboostet.

15 Pro Immunisierung wurden 100 µg Peptid bzw. 30 µg leere (keine DNA enthaltende) assemblierte AAV-2-Kapside in 0,1 ml PBS und 0,1 ml komplettem bzw. inkomplettem Freund's Adjuvans (icFA) eingesetzt:

Tag 0. 1. Immunisierung (Peptide + komplettes Freund's Adjuvans)
Tag 24: 2. Immunisierung (Peptide + icFA)
Tag 41: 3. Immunisierung (Kapside + icFA)
20 Tag 132: 4. Immunisierung (Kapside + icFA)
Tag 145: Fusion

25 Nach Abschluß der Immunisierung wurde die Milz einer Maus entnommen und die daraus isolierten Milzzellen mit Ag8 Zellen fusioniert. Die so entstandenen Klone sondern Antikörper in das Medium ab, welches nun mit verschiedenen Essays auf seine Eigenschaften getestet wurde. Zunächst wurden alle Hybridomüberstände auf ihre Fähigkeit zu neutralisieren geprüft. In diesem auf GFP (green fluorescent protein) basierenden Neutralisationstest fand auch ein "Screenen" der monoklonalen Antikörper statt. Zellen wurden in 96 Lochplatten ausgesät und am darauffolgenden Tag mit einem Mix aus AAV-2 GFP-Partikel (MOI 10) und Hybridomüberständen inkubiert. 20 Stunden nach Infektion wurden die Zellen hinsichtlich der Expression von GFP unter UV-Licht untersucht. Hybridomüberstände, welche neutralisierend wirkten, also solche die die Expression von GFP verhindern, konnten nun auf ihre Fähigkeit, die Bindung von AAV-2 an den zellulären Rezeptor zu unterbinden,

28. Oktober 1999

17

untersucht werden. Dieser nicht-radioaktive Bindungstest wurde speziell für diese Aufgabe entwickelt (s. Fig. 2). Dazu wurden Hybridomüberstände zuerst mit AAV-2 inkubiert bevor diese auf Zellen, z.B. Hela-Zellen, gegeben wurden. Die an die Zelle bindenden AAV-2 Partikel wurden fixiert. Hybridomüberstände, welche an AAV-2 binden und die Bindung des Kapsids an den zellulären Rezeptor unterbinden, verhindern die Bindung an die Zellen. Nach einem Blockierungsschritt werden die an die Zellen gebundenen Viren mit dem monoklonalen A20-Antikörper, welcher assemblierte AAV-2 Kapside erkennt, nachgewiesen (Wistuba et al., Journal of Virology 71, S. 1341-1352, 1997). Die so charakterisierten Klone, welche neutralisierende und die Bindung inhibierende Antikörper produzieren, wurden daraufhin vereinzelt, um monoklonale Antikörper (Mak) zu gewinnen. Die so erhaltenen Maks wurden wiederum auf ihre Eigenschaften hin untersucht. Neben den soeben beschriebenen Assays wurden sie weiterhin auf ihr Verhalten in Immunfluoreszenzen von Ad-5 (Negativkontrolle) sowie Ad-5/AAV-2 infizierten Zellen, Western Blots von Ad/AAV-2 HeLa Extrakten und im AAV-2 ELISA untersucht. Nach Analyse dieser Daten und einer Subklassenbestimmung wurden die beiden Hybridome C24-B und C37-B ausgesucht. Die folgende Tabelle zeigt ihre Eigenschaften:

Assay	C24-B	C37-B
Neutralisationstest	+	+
Bindungstest	+	+
Western Blot Analyse	-	-
Immunfluoreszenz Adeno/AAV-2 infizierte Zellen	+	+
Adeno-infizierte Zellen	-	-
AAV-2 ELISA	+	+
Immunoglobulinsubklasse	IgG1	IgG1

28. Oktober 1999

18

Die beiden Hybridome wurden bei der DMSZ in Braunschweig am 19.8.1998 unter den folgenden Nummern hinterlegt:

C24-B: ACC 2369

C37-B: ACC 2370

5

Beispiel 2: Herstellung von fusionierten Einzelketten-Antikörpern

Von beiden Hybridomen, C24-B und C37-B, wurden Einzelketten-Antikörper (scFv) hergestellt. Nach Isolierung von RNA, mRNA und darauffolgende Synthese von cDNA konnte mit Hilfe von Oligonukleotidprimern, deren Sequenz in Breitling et al., Methods in Molecular Medicine, S. 581-592, Vol. 13: Molecular Diagnosis of Infectious Diseases, Humana Press Inc. Totowa NJ publiziert ist, in der Polymerasen-Kettenreaktion (PCR) die variablen Domänen der leichten (VL) und der schweren Kette (VH) isoliert werden. Diese wurden gemäß Standardmethoden in das Expressionsplasmid pHOG21 (Kipriyanov, S.M. et al., 1997, J. of Immunol. Methods 200, S. 69-77) kloniert.

In Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. M. Little am DKFZ werden dann "diabodies" hergestellt. Diese "diabodies" sind bivalent und bispezifisch, da sie aus zwei miteinander fusionierten scFv bestehen. Dabei wird die VH Domäne des einen Antikörpers (C24-B oder C37-B) durch einen kurzen Linker mit der Sequenz "AKTTPKLGG" (Peptidlinker, welcher die ca. 3,5 nm zwischen dem C-Terminus der einen Domäne und dem N-Terminus der anderen Domäne überbrückt (Kipriyanov, S.M. et al, Int. J. Cancer 77, S. 763-772, 1998) mit der VL Domäne eines anderen Antikörpers (anti-CD19) verbunden und umgekehrt. Allgemeine Hinweise zur Herstellung von diabodies sind "Little et al., Methods in Molecular Medicine 555-580, Vol. 13: Molecular Diagnosis of Infectious Diseases, Humana Press Inc. Totowa NJ" zu entnehmen. Dadurch entsteht ein Produkt, welches zwei Antigen-Bindungsdomänen besitzt, welche an gegenüberliegenden Seiten des Komplexes liegen.

Die obigen "diabodies" werden sich aus den scFv von C24-B bzw.

28. Oktober 1999

19

C37-B und scFv von Antikörpern, die an B-Zellen binden, zusammensetzen. Allerdings besteht die Möglichkeit alle scFv, welche gegen Zellrezeptoren gerichtet sind, in diese "diabodies" einzubauen.

5

Beispiel 3: Chemische Kopplung von Fab Fragmenten

Fab Fragmente von C24-B und C37-B wurden gemäß Standardmethoden isoliert. Diese werden nun mit IgGs, die gegen EGF und FGF Rezeptoren gerichtet sind, oder mit Folat, dem Liganden des Folatrezeptors, chemisch gekoppelt. Die Konjugation erfolgt mit Hilfe von SPDP(3-(2-Pyridyldithio)propionic Acid N-Hydroxysuccinimide Ester). Die entstandenen Komplexe werden über HPLC aufgereinigt und können nun eingesetzt werden, den Zelltropismus von AAV-Vektoren zu verändern. Dazu werden AAV-Vektoren mit den gereinigten Fab-IgG/-Liganden Komplexen inkubiert. Die nicht an die AAV-Vektoren gebundenen Komplexe werden (z.B.) durch Zentrifugation durch ein Zuckerkissen abgetrennt.

Insbesondere werden AAV-2 Vektoren mit den Luciferase bzw. LacZ Reportergenem eingesetzt, um eine quantitative und qualitative Aussage über die erzielte Expressionseffizienz zu erhalten. Es können aber natürlich alle verfügbaren AAV-Vektoren eingesetzt werden. Diese Vektoren werden dann mit den Fab-IgG/Ligand Komplexen inkubiert.

Beispiel 4: Änderung des Tropismus von rAAV-2

Die in Beispiel 2 beschriebenen "diabodies" und in Beispiel 3 beschriebenen Fab-IgG/Liganden Konjugate können nun zur Änderung des Tropismus von rAAV-2 eingesetzt werden.

Zwei generelle Anwendungsmöglichkeiten bieten sich an. Zum einen werden die Fab-IgG/Liganden Konjugate eingesetzt, um das Prinzip zu testen, daß rAAV-2 Zellen über einen neuen Rezeptor infizierbar sind. Nach Kopplung von Fab Fragmenten an den Liganden Folat zum Beispiel und darauffolgender Inkubation mit rAAV-2, wird gezeigt, daß Zellen (z.B. HeLa, KB), welche den Folatrezeptor überexprimieren, infizierbar sind. Diese

28. Oktober 1999

20

Infektion kann nicht durch einen Überschuß an Heparin, welches die natürliche AAV-2 Infektion hemmt, wohl aber durch die Gegenwart von freien Fab Fragmenten oder einem Überschuß von Folat im Medium verhindert werden. Mit Hilfe von Zelllinien, welche z.B. den EGF Rezeptor exprimieren (MDA, MB468 oder U118), kann anhand des Fab-anti-EGFR-IgG Konjugates analog zu den oben geschildertem Beispiel mit dem Folat-Liganden ein "retargeting" an den EGFR gezeigt werden. (Siehe Fig. 3).

- 10 Eine Änderung des Tropismus ist aber auch über die beschriebenen "diabodies" möglich. Diese werden eingesetzt, um für AAV-2 schlecht infizierbare Zellen (z.B. die Zelllinien Raji [human Burkitt lymphoma cell line], 9023 und 9050 [human lymphoblastoid cell lines]; Maass, G. et al. Human Gene Therapy 9, 1049-1059, 1998) einer AAV-2 Infektion zugänglicher zu machen. Hierzu werden die "diabodies" mit rAAV-2 inkubiert, die nicht an die AAV Kapside gebundenen "diabodies" abgetrennt und dann auf die oben genannten Zellen gegeben. Damit ist nun eine effiziente Infektion, der von nicht modifiziertem AAV-2 kaum infizierbaren Lymphomzelllinien möglich.

28. Oktober 1999

21

Patentanspruch

- 5 1. Monoklonaler Antikörper oder Fragment davon, dadurch gekennzeichnet, daß er an das Kapsid eines Adeno-assoziierten Virus (AAV) bindet und die Bindung des Virus an den Virusrezeptor einer ursprünglichen Zielzelle verhindert.
- 10 2. Antikörper nach Anspruch 1, wobei der Antikörper ein aus einem Tier stammender Antikörper, ein humaner bzw. humanisierter Antikörper, ein chimärer Antikörper, ein Einzelketten-Antikörper oder ein Fragment davon ist.
- 15 3. Antikörper oder Fragment davon nach Anspruch 1 oder 2, wobei das AAV AAV-2, AAV-3, AAV-4, AAV-5 oder AAV-6 ist.
- 20 4. Antikörper nach einem der Ansprüche 1 bis 3, der an gemeinsame Sequenzen von V1, VP2 oder VP3 bindet.
- 25 5. Antikörper oder Fragment davon nach Anspruch 4, der an die Kapsidproteine von AAV-2 im Bereich der Aminosäuren 449 bis 600 (bezogen auf VP-1) bindet.
- 30 6. Antikörper nach Anspruch einem der Ansprüche 1 bis 5, der C24-B (bei der DSMZ, Braunschweig am 19. August 1998 unter ACC 2369 hinterlegt) oder C37-B (bei der DSMZ Braunschweig am 19. August 1998 unter ACC 2370 hinterlegt) ist.
- 35 7. Antikörper oder Fragment davon nach einem der Ansprüche 1 bis 6, außerdem dadurch gekennzeichnet, daß er mit einem gewünschten Rezeptorliganden fusioniert ist.
8. Antikörper oder Fragment davon nach Anspruch 7, wobei der Rezeptorligand
- Folat,

28. Oktober 1999

22

- "Fibroblast Growth Factor" (FGF),
 - RGD Peptidmotive, die an α_v -Integrine binden,
 - Asialoglycoprotein (ASGP),
 - Erythropoietin
 - 5 - Epidermal Growth Factor (EGF), oder
 - ein Antikörper, der gegen einen gewünschten Rezeptor gerichtet ist, z.B.:
 - anti-human secretory component Fab
 - 10 fragment
 - anti-CD19
9. Hybridom, einen Antikörper nach einem der Ansprüche 1 bis 8 erzeugend.
- 15 10. AAV-Vektor, dadurch gekennzeichnet, daß ein Antikörper oder ein Fragment davon nach einem der Ansprüche 1 bis 8 an das Kapsid gebunden ist und dieses nicht mehr an den Virusrezeptor der ursprünglichen Zielzelle binden kann, jedoch gegebenenfalls an den Virusrezeptor einer
- 20 gewünschten Zielzelle.
11. AAV-Vektor nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, daß er von AAV-2, AAV-3, AAV-4, AAV-5 oder AAV-6 abgeleitet ist.
- 25 12. Verfahren zum gerichteten Gentransfer, dadurch gekennzeichnet, daß als Vehikel für die in die gewünschte Zielzelle einzuschleusende Nucleinsäuresequenz ein AAV-Vektor nach Anspruch 10 oder 11 verwendet wird.
- 30

28. Oktober 1999

23

Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft monoklonale Antikörper oder Fragmente
5 davon, die an das Kapsid von Adeno-assoziierten Viren binden,
wodurch die Bindung des Virus an den Virusrezeptor der
ursprünglichen Zielzelle verhindert wird. Dieser Antikörper
oder das Fragment davon können außerdem mit einem gewünschten
10 Rezeptorliganden fusioniert werden. Nach Bindung eines solchen
Antikörpers an das AAV-Kapsid wird ein AAV erhalten, das über
einen veränderten Tropismus verfügt, also - in Abhängigkeit
von dem fusionierten Liganden - an eine neue Zielzelle binden
kann und zur Konstruktion eines AAV-Vektors für gerichteten
15 Gentransfer verwendet werden kann.

1/3

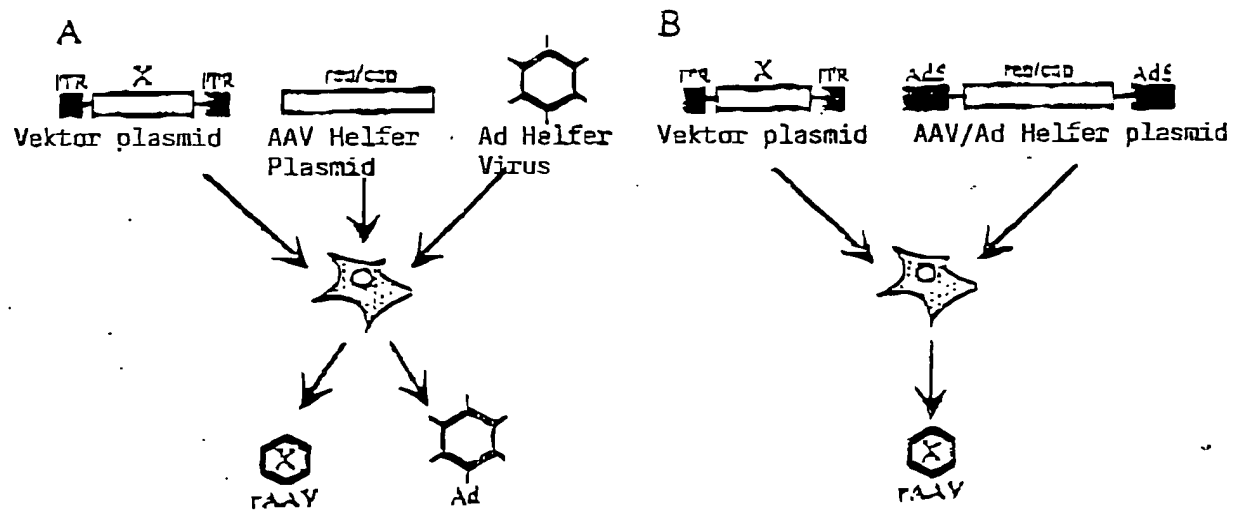


Fig. 1

2/3

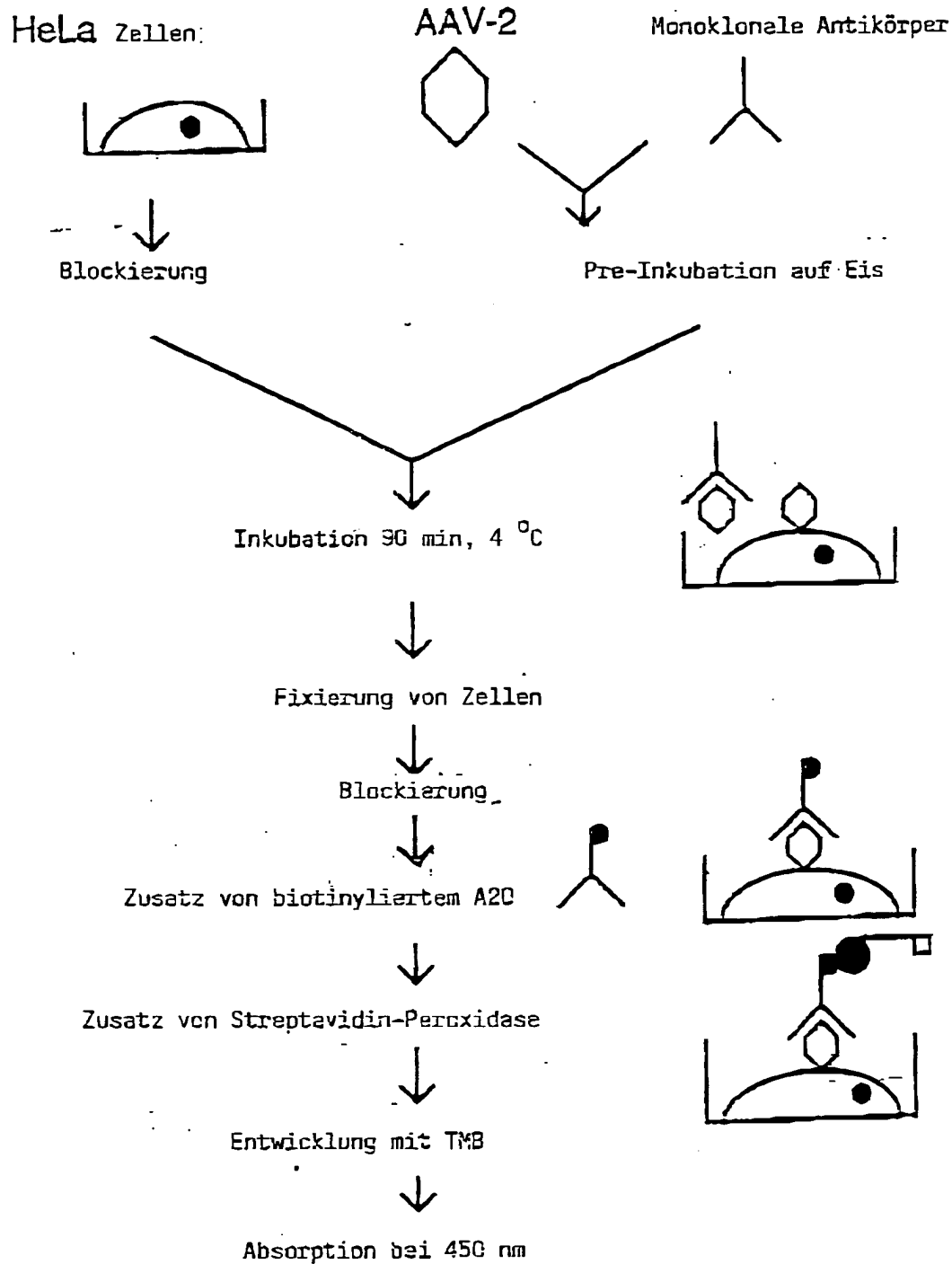
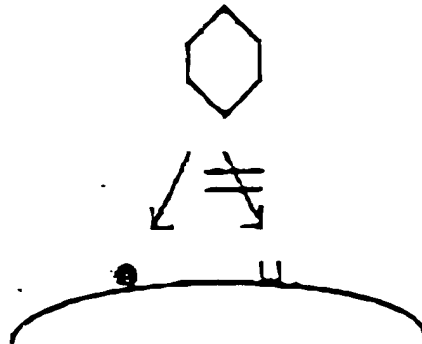


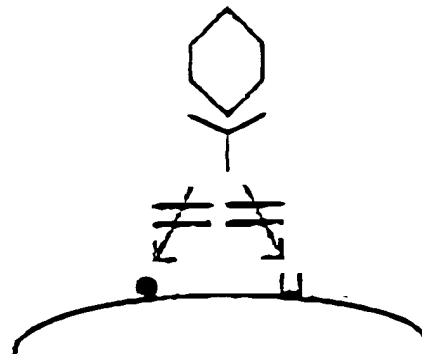
Fig. 2

3/3

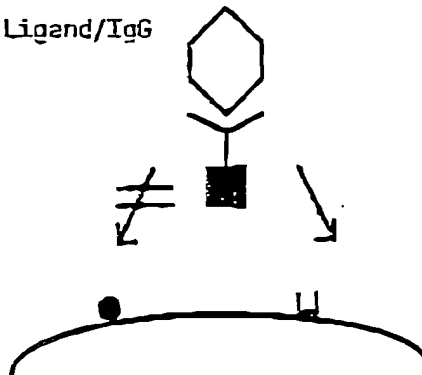
A: AAV-2 Bindung an Zellen



B: AAV-2 komplexiert an Fab Fragment

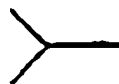


C: Konjugation von Fab an Ligand/IgG



● AAV-2 Rezeptor

□ AAV-2 Targetrezeptor



C24-B/C37-B Fab-Fragment

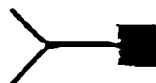
C24-B/C37-B Fab-Fragment
konjugiert an Ligand/IgG

Fig. 3